

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD MEDICINA VETERINARIA

E. A. P. DE MEDICINA VETRINARIA

**Saneamiento y detoxificación de carne de llama (Lama
glama) infectada con Sarcocystis aucheniae mediante
métodos químicos:**

marinado, ahumado, curado seco y curado húmedo

TESIS

para optar el título de Médico Veterinario

AUTOR

Lidia Natalia Granados Zavaleta

Lima – Perú

2006

DEDICATORIAS

A Dios: Por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarte cada día más.

A mi mamita Magna, que siempre me acompañó desde el cielo, brindándome el empuje necesario para cumplir los sueños que alguna vez lo imaginamos juntas.

A mis padres: Lucho y Nélide, que me enseñaron con su ejemplo a ser una mejor persona, por su esfuerzo constante por brindarme lo mejor.

A mis Hermanas: Mili, Janita y Lucia quienes mantienen encendido mi deseo constante de superación.

A mis amigas, que gracias al equipo que formamos logramos llegar hasta el final del camino y que hasta el momento, seguimos siendo amigas: Rebeca Coronado, y Shirley Arista, en especial a mi amiga y compañera de tesis Roxana Godoy. A Miguel por todo el apoyo que me ha dado en todos los aspectos de mi vida.

A mi Alma Mater la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por los conocimientos transmitidos en el desarrollo de mi formación profesional.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer la colaboración de la Dra. Rosa Sam, por todas las facilidades que nos brindó en el procesamiento de los inóculos; al Dr. Alvarado por su ayuda en el Laboratorio de Patología Clínica, al Dr. Víctor Leyva por su apoyo invaluable en la redacción de la Tesis; a los miembros de mi jurado, especialmente a la Dra. Teresa Arbaiza por facilitarme una revisión crítica de la Tesis, además por su paciencia y sus ganas de hacer bien las cosas.

Agradezco la colaboración y consejos de mi Director de Tesis el Dr. Miguel Ángel Vilca López.

Además deseo brindar un agradecimiento a la fuente de financiamiento INCAGRO, al Sub – Proyecto “Estrategias de manejo nutricional genético y sanitario para la expresión de la capacidad genética de un núcleo de reproducción de llamas para producción de carne”.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	I
SUMMARY	II
INDICE DE ABREVIATURAS	III
LISTA DE CUADROS	IV
LISTA DE FOTOS Y FIGURAS	V
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1. CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS	
2. CARNE DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS	
3. COMERCIALIZACIÓN DE CARNE DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS.	6
4. SARCOCYSTIOSIS	7
4.1 Etiología	
4.2 Morfología	9
4.3 Taxonomía	11
4.4 Ciclo biológico	
4.4.1 Hospedero definitivo	12
4.4.2 Hospedero intermediario	
4.5 Epidemiología	14
4.5.1 En el parásito	
4.5.2 En el hospedero	15
4.6 Patología del sarcocystis	16
4.6.1 En el hospedero definitivo	
4.6.2 En el hospedero intermediario	17
4.7 Signos Clínicos	
4.8 Diagnóstico	18

4.9 Tratamiento	19
4.10 Control	20
4.10.1 Acciones sobre los hospederos definitivos	
4.10.2 Acciones sobre la comunidad humana	21
4.10.3 Acciones sobre el camal	
4.11 Sarcocystina	22
4.12 Importancia en salud pública	23
4.13 Importancia económica	24
5. TRATAMIENTOS QUIMICOS DE LA CARNE	
5.1 Curado	
5.1.1 Definición del curado	
5.1.2 Sustancias curantes	
5.1.2.1 Sal	25
5.1.2.1.1 Funciones de la sal	
5.1.2.2 Nitratos y Nitritos	
5.1.2.3 Azúcares	26
5.1.3 Aspectos organolépticos	
5.1.4 Técnicas del curado	
5.1.4.1 Curado Seco	27
5.1.4.2 Curado húmedo	
5.1.4.3 Curado por inyección	
5.2 Ahumado	30
5.2.1 Definición	
5.2.2 El humo	
5.2.3 El efecto del humo	
5.2.4 Técnicas del ahumado	31
5.2.4.1 Ahumado en frío	
5.2.4.2 Ahumado en caliente	
5.2.4.3 Ahumado electrostático	32
5.3 Marinado	
5.3.1 Definición	
5.3.2 Ingredientes utilizados	35
5.3.2.1 Cloruro de sodio	

5.3.2.2 Ácidos	
5.3.2.3 Fosfatos	
5.3.2.4 Sabores	
5.3.3 Técnicas del marinado	36
5.3.3.1 Inmersión estática	
5.3.3.2 Inmersión dinámica	
5.3.3.3 Marinado por inyección	
5.3.3.4 Marinado mixto	37
6. DESNATURALIZACIÓN DE PROTEÍNAS	
6.1 Efecto de la polaridad disolvente sobre la estructura de las proteínas.	38
6.2 Efecto de la fuerza iónica sobre la estructura de las proteínas.	
6.3 Efecto del pH sobre la estructura de las proteínas	
6.4 Efecto de la temperatura sobre la estructura de las proteínas	
III. MATERIALES Y MÉTODOS	39
1. Lugar de estudio	
2. Materiales experimentales	
2.1 Obtención y preparación de la carne de llama parasitada con sarcocystis	
2.2 Animales	40
2.2.1 Obtención y preparación de los perros	
2.2.2 Obtención y preparación de los conejos	42
3. Procedimiento Experimental	
3.1 Tamaño de muestra	
4. Diseño experimental	43
4.1 Metodología de los tratamientos químicos aplicada a la carne parasitada con Sarcocystis	
1. Grupo 1: MARINADO	
2. Grupo 2: AHUMADO	
3. Grupo 3: CURADO SECO	
4. Grupo 4: CURADO HÚMEDO	
5. Grupo 5: CONTROL POSITIVO	
4.2 toxicidad en conejos de los quistes de sarcocystis provenientes de carnes tratadas	44
4.3 Viabilidad de los quistes de Sarcocystis provenientes de carnes	

tratadas con métodos químicos	
5. Técnicas de evaluación	46
5.1 Toxicidad de los quistes de <i>Sarcocystis aucheniae</i> provenientes de carnes tratadas mediante tratamientos químicos.	
5.1.1 Preparación del inóculo	
5.1.2 Determinación de proteínas de lisados <i>S. aucheniae</i>	
5.1.3 Dosis del inóculo de proteínas purificadas de macroquistes de <i>S. aucheniae</i> obtenidas de carnes tratadas y no tratadas	47
5.1.4 Evaluación de los signos clínicos	
5.2 Ensayo de viabilidad de los quistes de <i>sarcocystis</i> provenientes de carnes tratadas mediante métodos químicos.	
5.2.1 Examen Copro-parasitológicos	
IV RESULTADOS	49
1. Ensayo de la toxicidad de los quistes de <i>sarcocystis</i> provenientes de carnes tratadas mediante tratamientos químicos	
1.1 Signos clínicos	
1.2 Letalidad por efecto de la toxina de macroquistes de <i>Sarcocystis aucheniae</i> proveniente de carnes tratadas y no tratadas	52
2. Ensayo de viabilidad de los quistes de <i>sarcocystis</i> provenientes de carnes tratadas mediante métodos químicos.	
V. DISCUSIÓN	55
1. Evaluación de la detoxificación de la carne de llama tratada	
2. Evaluación de la interrupción del ciclo biológico de <i>Sarcocystis</i>	57
VI. CONCLUSIONES	58
VII. BIBLIOGRAFÍA	59

INDICE DE ABREVIATURAS

CSA	: Camélidos Sudamericanos.
CONACS	: Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos.
CONCYTEC	: Consejo Nacional de Ciencia, tecnología e innovación, tecnológica y Tecnología.
H.D	: Hospedero Definitivo
H.I	: Hospedero Intermediario
ELISA	: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay Inmuno (Ensayo Enzimático).
SBF	: Simulated Body Fluid (Tampon Salino Fosfatado).
MINAG	: Ministerio de Agricultura.
FMV	: Facultad de Medicina Veterinaria.
UNMSM	: Universidad Nacional Mayor de San Marcos .
NOBIVAC® DHPPi	: Vacuna combinada a virus vivo modificado contra virus de Distemper canino (CDV), Adenovirus canino tipo I (CAV1) y II (CAV2), Parvovirus canino (CPV) y Virus Parainfluenza canina (CPi).
PV	: Peso Vivo

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1: Cuadro comparativo nutricional.

Cuadro 2: Características de *Sarcocystis aucheniae* y *Sarcocystis lamarcanis*.

Cuadro 4: Formulación de salmueras y sales para el curado de carnes.

Cuadro 5: Sistemas de ahumado.

Cuadro 6: Diseño de los Grupos de tratamientos químicos de carne parasitada con *Sarcocystis* para el ensayo de toxicidad proteica de los macroquistes.

Cuadro 7: Diseño experimental de los Grupos de tratamientos químicos de carne parasitada con *Sarcocystis* para el ensayo de viabilidad de quistes.

Cuadro 8: Número de quistes y concentración de proteínas purificadas medidas en µg. por ml de carnes tratadas y no tratada.

Cuadro 9: Dosis de inóculo estandarizado a 1ml. Conteniendo 100µg/Kg PV de sustancia proteica obtenida de los quistes de las carnes tratadas y no tratadas.

Cuadro 10: Temperatura rectal promedio en los conejos, registrado pre-inoculación y 1h, 4h, 8h, 16h post-inoculación de la sustancia proteica del lisado de macroquiste de *S. Aucheniae* provenientes de carnes tratadas y no tratadas.

Cuadro 11: horas de muerte pos – inóculo.

Cuadro 12: Examen coproparasitológico de perros alimentados con carnes tratadas y no tratadas dentro de los 30 días post ingestión.

LISTA DE FOTOS Y FIGURAS

Foto 1	:Macroquistes musculares de <i>Sarcocystis aucheniae</i> .
Foto 2	: Ooquistes de <i>Sarcocystis</i> spp.
Foto 3	: Preparación del Curado seco.
Foto 4	: Curado húmedo.
Foto 5	: Preparación del ahumado caliente.
Foto 6	: Carne marinada.
Foto 7	: Carne de llama parasitada con <i>Sarcocystis aucheniae</i> .
Foto 8	: Distribución de los cachorros en los caniles.
Foto 9	: Signos clínicos observados en los animales del Grupo control positivo y el curado húmedo.
Foto 10	: Hallazgos de Necropsia.
Figura 1	: Ciclo biológico del <i>Sarcocystis</i> spp

RESUMEN

Con el objetivo de sanear y detoxificar la carne de llama parasitada naturalmente con macroquistes de *Sarcocystis aucheniae*, fue dividida en 4 grupos para ser tratada con los métodos químicos: marinado (vinagre y sal) por 48 horas, ahumado (60° C) por 2 horas, curado seco y curado húmedo por 10 días; además de evaluar una porción de carne sin tratamiento (grupo control positivo). Se preparó un lisado a partir de macroquistes provenientes de carnes tratadas y no tratadas, los cuales fueron inoculados subcutáneamente en conejos a dosis de 100µg por kilogramo de peso vivo. Murieron todos los conejos del grupo curado húmedo y del grupo control positivo; no así los del grupo marinado, ahumado y curado seco. Los animales que murieron presentaron similar sintomatología tóxica, caracterizadas por depresión, hipertermia, anorexia, congestión de mucosas, ataxia y opistótomos. Así mismo, grupos de cachorros de perros se alimentaron con carne de llama parasitada con *Sarcocystis aucheniae* (de 150 a 200 macroquistes por cachorro) previamente tratada con uno de los métodos químicos anteriormente señalados, excepto el grupo de cachorros que ingirió carne parasitada no tratada (grupo control positivo). Solamente los perros del grupo control positivo eliminaron esporoquistes a partir del día 14 post - ingestión. El grupo control negativo en conejos (inoculados con solución salina) no mostraron signos de toxicidad y grupo control negativo de cachorros (alimentados con alimento balanceado) no eliminaron esporoquistes. Los resultados obtenidos nos demuestran que los tratamientos marinado, ahumado y curado seco lograron sanear y detoxificar la carne de llama parasitada con *Sarcocystis aucheniae*, mientras que el curado húmedo no logro.

Palabras claves: *Sarcocystis aucheniae*, macroquistes, carne, conejos, inóculos, perros, esporoquistes.

SUMMARY

With the objective of clearing and disinfecting the llama meat, naturally infected with macro-cysts of *Sarcocystis aucheniae*, the meat was divided into 4 groups to be treated with chemical methods: marinated (with vinegar and salt) for 48 hours, smoked (till 60°C) for 2 hours, dry cured, humid cured for 10 days; also to evaluate a portion of the meat without treatment (as positive control group). It was prepared lisis of macro-cysts from treated meats and non-treated meats, which were inoculated into rabbits; a dose of 100ug for each kilogram to rabbit's lived weight. All the rabbits in the humid cured group and the positive control group died but not those in the marinated, smoked and the dry cured groups. The animals which died had the same toxic, characterized by depression, hyperthermia, anorexia, mucous congestion, ataxia and opistotoms. Likewise, groups of puppies were fed with the infected llama meat with *Sarcocystis aucheniae* parasites (between 150 to 200 macro-cysts per puppy) previously treated with one of the chemical methods as explained earlier, except the positive control group, which were fed with non-treated meat. Only the dogs in the positive control group eliminated esporoquistes after alimentation for 14 days. The negative group control of rabbits (inoculated with saline or salt solution) did not show intoxication signs and the negative control group of puppies (fed with balanced dog food prepared) did not eliminate esporoquistes. The results obtained show us that treatments marinated with vinegar and salt, smoked and dry cured methods were be able to clean and disinfect the llama meat infected with macro-cysts of *Sarcocystis aucheniae*, while the humid cured method does not achieved the same result.

Keys words: *Sarcocystis aucheniae*, macro-cysts, meat, rabbits, inoculos, dogs, and esporoquistes.

I. INTRODUCCIÓN

Se estima que alrededor de 500 mil familias campesinas de la Región Andina dependen directamente de la actividad productiva de los camélidos sudamericanos (Minag, 2004), a través de un sistema de producción, donde el componente pecuario esta dominado por la alpaca (70%) y la llama constituye entre el 10 y 15 % de dicho componente (Leyva, 1991). El bajo precio de la fibra de alpaca en el mercado limita el ingreso del productor nacional, siendo necesario, como alternativa impulsar otros parámetros productivos de los camélidos, tal como la producción de carne, a fin de mejorar la rentabilidad del sistema de producción. Diversos estimados sobre los ingresos generados por estos productores, dan cifras entre 300 a 500 dólares por familia al año (Minag, 2004).

Se ha demostrado que entre los camélidos la llama tiene el mayor potencial para producción de carne (Leyva, 1989), con mayor rendimiento de carcasa (52% a 58%); la producción de carne de llamas, para el 2001 alcanzó un volumen de 3 209 toneladas (Minag, 2004); sin embargo, dicho potencial productivo es limitado por su crianza en praderas alto andinas que aportan una alimentación pobre en cantidad y calidad, sobretodo en la época seca, factor que limita el desarrollo corporal lo que determina que la venta al mercado como carne provenga mayormente de animales muy adultos, con alta incidencia de *Sarcocystis* macroscópica en la carcasa, como lo demuestran varios estudios (Leguía et al,

1989a, Castro, 1974), problema que demerita la calidad de la carne afectando su precio en el mercado y en algunos casos el decomiso de la canal (Vilca et al, 1996).

La sarcocystiosis es también importante en salud pública, debido a que, el consumo de carne infectada en forma cruda o mal cocida produce un cuadro de gastroenteritis, principalmente en niños, con presencia de dolor estomacal, diarrea, escalofríos, náuseas y vómitos (Leguía et al, 1989a), por la acción de sustancias tóxicas procedentes de los quistes. Una alternativa de solución a este problema es interrumpir el ciclo biológico del parásito asociado a la inactivación de la toxina (Hiepe et al, 1981); por tanto el propósito del presente estudio, es interrumpir el ciclo parasitario e inactivar la toxina de los quistes mediante la aplicación de tratamientos químicos a carnes de llamas afectadas por sarcocistis apreciable macroscópicamente, determinando luego, tanto la inocuidad de la toxina como la demostración de la interrupción del ciclo biológico parasitario empleando pruebas biológicas con conejos y cachorros caninos.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS:

Los camélidos sudamericanos son animales típicos de nuestra zona andina. Los primeros indicios de su domesticación datan de hace 6,000 años, en Telarmachay (Departamento de Junín, Perú), la cual culmina con el pastoreo y la aparición de diversas variedades de camélidos plenamente domesticados, 3500 a.c. Los Camélidos Sudamericanos engloba a dos especies silvestres, la vicuña y el guanaco y dos especies domésticas la llama y la alpaca (Escobar, 1999; Minag, 2004).

En la época de la conquista los cronistas destacan la gran importancia de los camélidos domesticados dentro de la economía inca; ya que, proporcionaban fibra para la confección de la ropa de los habitantes del ande: cuero para la confección de las usutas (ojotas) y fundamentalmente carne, producto que cubría la mayor parte de las proteínas en las dietas. En la época de la República es importante destacar el cambio sustancial que se produjo por los efectos de la migración; la migración del poblador altoandino, supone entre otros el cambio de sus hábitos alimentarios, pero la costumbre de consumir carne de llama o alpaca sea fresca o seca se mantiene (Montoya, 1988).

La crianza de alpacas y llamas constituye una actividad económica de gran importancia para un vasto sector de la población alto - andina, principalmente de

Perú y Bolivia y en menor grado de Argentina, Chile y Ecuador. Se estima que alrededor de 500 mil familias campesinas de la Región andina dependen directamente de la actividad con camélidos sudamericanos, además de otras que se benefician indirectamente de ella.

A nivel nacional, el Perú cuenta con 3 041 598 cabezas de alpacas, en el año 2001, siendo los principales departamentos productores: Puno (58.5%), Cuzco (11.4%), Arequipa (9.4%), Huancavelica (6.8%) y Ayacucho (4.6%) y cuenta con una población nacional de Llamas de 1.104 millones de cabezas, distribuidas desde Ancash en el Norte, hasta el Departamento de Puno en el sur, siendo los principales departamentos productores: Puno (37.11%), Cuzco (16.12%), Huancavelica (11.14%), Ayacucho (10.05%) y Arequipa (9.23%) (Minag, 2004).

La Crianza de los camélidos sudamericanos, se desarrolla por sobre los 3,800 m.s.n.m, caracterizándose por sus condiciones geográficas difíciles, clima variable (calor de día y temperaturas menor de cero grados Celsius en las noches), dispersión de las viviendas, carencia de vías de comunicación y servicios, ubicando a los productores alto - andinos entre los más pobres de la población rural. Diversos estimados sobre los ingresos generados por estos productores, dan cifras entre 300 a 500 dólares por familia al año (Franco et al, 1998; Minag, 2004).

2. CARNE DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS:

Los camélidos sudamericanos junto con los cobayos constituyen una de las principales fuentes de proteínas de los habitantes de los andes, teniendo un porcentaje de proteínas de 24.82% para la llama y de 20.33% para la alpaca.

El valor proteico de la carne de camélidos es superior al de otras carnes como las del ovino o vacuno y su contenido de grasa es menor, por lo tanto no es fuente de colesterol (Cuadro 1) (Minag, 2004).

Cuadro 1: Cuadro Comparativo Nutricional

Carne	% Proteína	% Grasa
Llama	24.82	3.69
Pollo	21.87	3.76
Vaca	21.01	9.85
Conejo	20.50	7.80
Cerdo	19.37	29.06
Oveja	18.91	6.63

Fuente: Minag –2004

La canal de alpaca y llama se caracteriza por su color rojo cereza, olor sui géneris, sabor agradable y textura medio suave, pero como en todas las especies animales las características sensoriales varían con la edad, sexo, estado sanitario y fundamentalmente la nutrición, sin embargo las carnes provenientes de alpacas engordadas tienen un sabor más acentuado debido al componente graso cambiando su color a un rojo cremoso (Téllez, 1992).

En cuanto a los volúmenes de producción se refiere, la producción de carne de alpaca para el 2001 alcanzó un volumen de 8 271 toneladas; mientras que la de Llama 3 209 toneladas (Fuente: MINAG - OIA). Con un consumo per-capita de 0.32 Kg. /per cápita/año (Minag, 2004).

3. COMERCIALIZACIÓN DE CARNE DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS

La carne es un recurso tan importante como la fibra desde un punto de vista económico; pero lo es más desde una perspectiva social, en un país como el nuestro, donde todavía no se ha podido resolver el problema alimentario (Jerí, 1988).

La canal de alpaca y llama representa un potencial ecológico, nutritivo y económico, que se hace merecedor a una atención primordial en las carnes comercializadas en las zonas andinas (Gamarra, 1994; Sánchez et al, 2001)

La comercialización de la carne de camélidos siempre adoleció de un mal manejo en la crianza, estado sanitario, siendo la sarcocystiosis uno de los principales problemas; además del mal manejo en la matanza, las cuales se realizan en lugares clandestinos sin la debida inspección veterinaria (Sánchez et al 2001)

En el Perú se han establecido parámetros de selección para el beneficio de CSA, estableciendo medidas basadas en la edad de los animales, sabiendo que a menor edad la presentación de este parásito es menor (Sánchez et al, 2001) y, cuanto más adulta se sacrifica la alpaca o llama, la carne está más severamente invadida de quistes, lo que baja su valor comercial llevándose a veces al decomiso de toda la carcasa (Leguía et al, 1989a; Alva et al., 1980). Los animales que

tienen más de 3 años presentan un 100% de parasitosis (Sánchez et al, 2001; Castro et al, 2004).

4. SARCOCISTIOSIS

4.1 Etiología:

Es una enfermedad parasitaria, se le conoce vulgarmente como “triquina” o “arrocillo”, ocasiona grandes pérdidas económicas por la baja producción y el decomiso de canales con la presencia masiva de macroquistes en la carne (Leguía, 1999).

La sarcocystiosis comprende un conjunto de enfermedades que afectan numerosas especies. Desde su descubrimiento por Mischner en 1843, los sarcosporidios se han descrito en la musculatura de los reptiles, aves y casi todos los mamíferos, incluidos los hombres, los simios y las ballenas (Mehlhorn et al, 1993).

La característica de este género es la de formar quistes musculares (Foto 1) tabicados que delimitan cavidades internas con numerosos zoítos. El nombre sarcosporidiosis proviene de sarkos = carne y sporidion = espora = semilla pequeña.

El ***sarcocystis spp.*** tiene un ciclo biológico que está presidido por la relación predador – presa, donde el predador, normalmente, un carnívoro es el hospedador definitivo; y la presa, un herbívoro, es el hospedador intermediario. Los ciclos vitales especie – específicos de presas – predador se han demostrado en ganado bovino y perros (*S. cruzi*), bovinos- gatos (*S. hirsuta*), bovinos- hombre (*S. hominis*) , ovino – perro (*S. ovis*) , ovinos – gatos (*S. gigantea*, *S. medusiformis*), cabra – perro (*S. capracanis*, *S. hircicanis*) y otros. (Merck, 2000).

Se han reportado 3 especies de *Sarcocystis* en CSA (Cuadro 2): *Sarcocystis tillopi* (sin. *S. guanicoecanis*) en guanacos, *S. aucheniae* en alpacas, llamas y vicuñas. Ambos producen quistes macroscópicos de crecimiento y maduración lenta en la musculatura esquelética, y el *S. lamacanis*, propuesto por Leguía y col en alpacas, que forman quistes microscópicos, infectivos en corto tiempo, en la musculatura miocárdica y esquelética (Leguía, 1999).

Cuadro 2: Características de *Sarcocystis aucheniae* y *Sarcocystis lamacanis*

Característica	<i>S. aucheniae</i>	<i>S. lamacanis</i>
Hospedero definitivo	Perros (también lobos)	Perros (también lobos)
Periodo prepatente H.D	11 – 20 días	9 – 14 días
Periodo patente H.D	20 – 41 días	60 – 72 días
Esporoquistes Eliminados por día	Hasta 560 000 (máximo a los 15 días post infección)	Hasta 2 000 000 (máximo a 22 días post-infección)
Medidas del Esporoquiste	15.63 ±0.47x10.84±0.36µm	13.10-15,55x9.08-11.15µm
Sobrevivencia del Esporoquiste en Pasturas	Prolongada, puede ser de 4 – 5 meses o mayor	Prolongada, puede ser de 4 – 5 meses o más.
Periodo prepatente de sarcocystiosis aguda H.I	21 – 25 días	19 – 22 días
Velocidad de maduración de los quistes H.I	Lenta, 14 – 18 meses	Rápida, 4 – 5 meses
Localización principal de los quistes H.I	Músculos esqueléticos, Nunca el corazón	Corazón y otros músculos estriados
Toxicidad en perros y Humanos al consumir Carne parasitada	Baja	Alta
Dosis letal de Esporquistes		>40 000 y <160 000

Fuente: White, 1998

H.D: Hospedero Definitivo

H.I: Hospedero Intermediario

4.2 Morfología

Los quistes suelen estar en los músculos, a veces se hallan en el cerebro; varían de tamaño según la especie, desde unos cuantos milímetros hasta varios centímetros de longitud (Soulsby, 1988).

Los quistes musculares son en su mayoría fusiformes aunque también pueden presentar forma globosa, como los que se encuentran en el esófago, visibles macroscópicamente y de aspecto blanquecino. Con los microscopios ópticos se puede obtener información sobre su pared quística que sirven de fundamento para la identificación de las especies. La pared del quiste puede ser delgada ($0.3 - 0.5\mu\text{m}$) o gruesa ($6 - 7\mu\text{m}$) y puede presentar estructuras o prolongaciones de tipo digitiforme, en empalizada, a modo de flecos (Cordero, 1999).

Los quistes están rodeados externamente por una unidad de membrana en íntimo contacto con la célula, debajo de la cual se sitúa una capa delgada de material denso; al conjunto unidad de membrana – estrato subyacente denso se denomina “pared primaria”. Existe además una capa amorfa, de material granular, que se dirige hacia el interior para formar los tabiques o septos. (Cordero, 1999).

Los ooquistes presentan una cubierta ooquística muy tenue y delicada, por lo que durante el tránsito intestinal, se rompe con facilidad. Cada ooquiste posee dos esporoquistes y cada esporoquiste tiene 4 esporozoitos (Foto 2) (Barriga, 2002).

Los ooquistes se identifican morfológicamente porque tienen un tamaño aproximado de $12 - 16 \times 9 - 11 \mu\text{m}$, están esporulados, son elipsoides, carecen de cuerpo de Stieda y en su interior, aparte de los esporozoitos, contienen por lo general un residuo granular disperso o con forma de mórula, que se localiza lateralmente o en uno de sus polos (Cordero, 1999).

Foto 1: Macroquistes musculares de *Sarcocystis aucheniae*

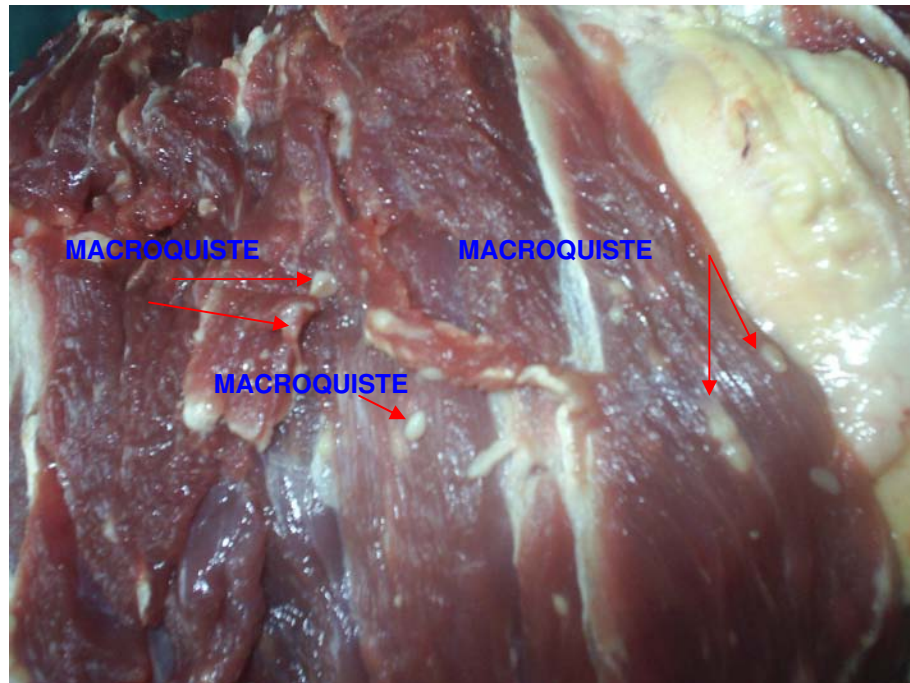
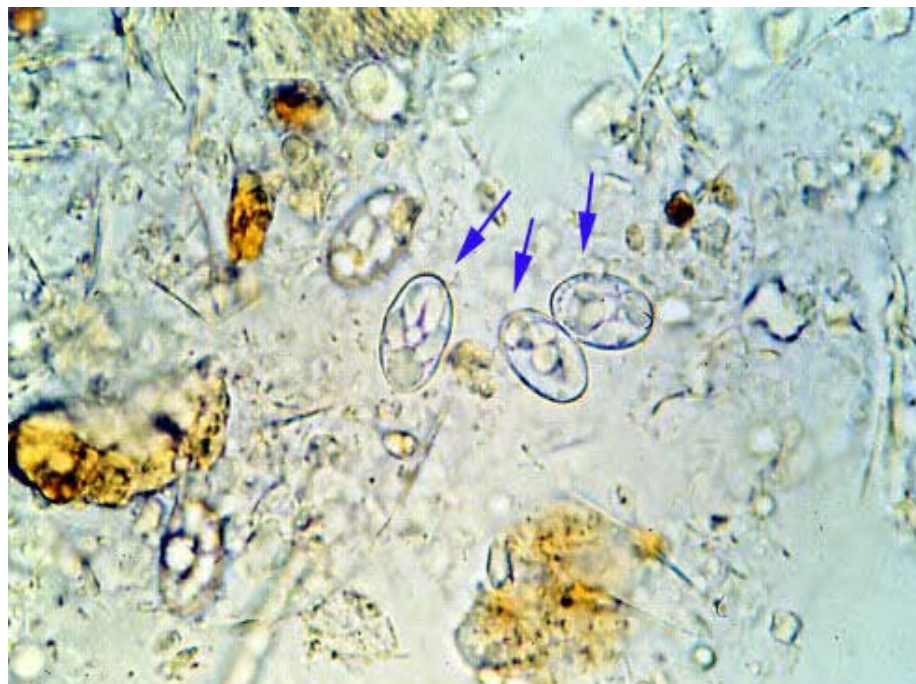


Foto 2: Ooquistes de *Sarcocystis* spp.



4.3 Taxonomía

El género *Sarcocystis* tuvo una situación variable hasta la década de los setenta, que fue cuando se aplicó la microscopia electrónica y se conoció mejor el ciclo biológico para el establecimiento de la taxonomía actual (Cordero, 1999).

Lavine en 1986 propone la siguiente clasificación taxonómica:

Phylum APICOMPLEXA Levine, 1970

Clase APOROZOASIDA Leuckart, 1879

Subclase COCCIDIASINA Leuckart, 1879

Orden EUCCOCCIDIORIDA Léger y Duboscq, 1910

Suborden EIMERIORINA Léger, 1911

Familia SARCOCYSTIDAE Poche, 1913

Subfamilia SARCOCYSTINAE Poche, 1913

Género SARCOCYSTIS Lankester, 1982

Durante muchos años se creyó que los quistes encontrados en cada especie hospedadora pertenecían a una misma especie parasitaria, a falta de la definición morfológica de las distintas especies y sobre todo al desconocimiento de los ciclos biológicos. Hoy se ha demostrado que pueden ser varias y que algunas de ellas pueden desarrollarse en varios hospedadores definitivos (Cordero, 1999)

El género *Sarcocystis* está compuesto por más de 130 especies (Tenter, 1995), con diferencias en la patogenicidad, estructura y su ciclo de vida. (Levine, 1986).

La denominación de las distintas especies del género, es por la combinación de los nombres genéricos de los hospedadores intermediarios con los definitivos, aunando en dicha denominación la relación biológica entre ambos. Es decir, que un sarcosporidio que realiza el ciclo entre oveja y perro habría que denominarlo *S. ovis* (Cordero, 1999)

4.4 Ciclo biológico:

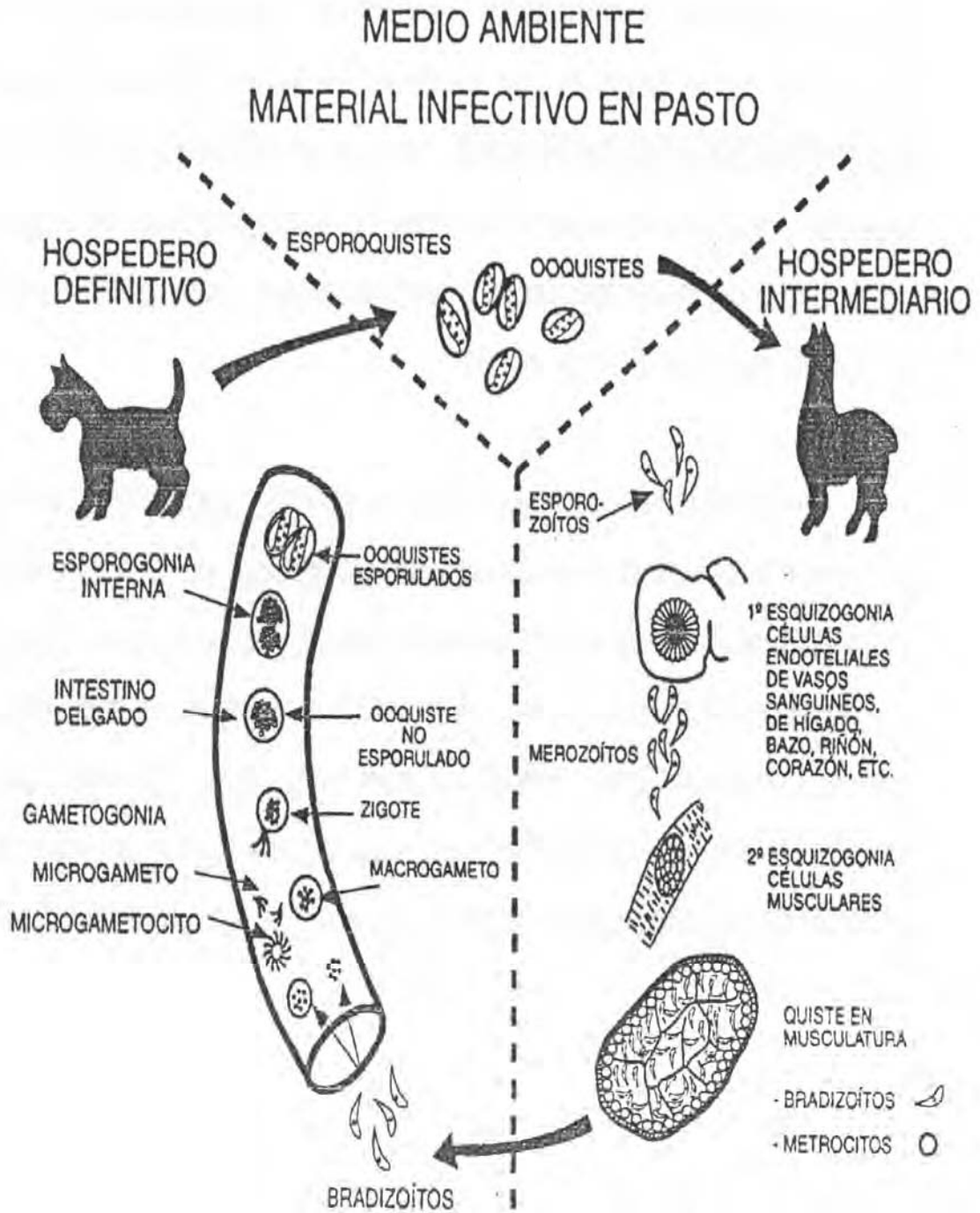
Comprende esencialmente tres fases, es decir la esquizogonia, gametogonia y esporogonia. Este ciclo sarcosporidiano se caracteriza por la existencia obligatoria de dos huéspedes sucesivos, el depredador (un carnívoro) y una presa (herbívoro u omnívoro) (Cordero, 1999)

El proceso esquizogónico, más o menos complejo según el caso, se efectúa en tejidos del huésped intermediario, en tanto que la gametogonia y esporogonia se realizan en la lámina propia del intestino del depredador o huésped definitivo (Figura 1) (Quiroz, 2000).

4.4.1 Hospedero definitivo (gametogonia): la infección se produce por ingestión de quistes con bradizoítos en los músculos de los hospedadores intermediarios. Los bradizoítos son liberados en el intestino y los zoítos libres pasan a la lámina propia subepitelial y se diferencian en micro y macrogametocitos. La gametogonia se produce durante las primeras 18 horas (Cordero, 1999) Después de la conjugación de los gametos, se forman los ooquistes de pared fina, los cuales de forma semejante a la de muchos esporozoos entéricos esporulan en el organismo (Umquhart et al, 2001). Cada ooquiste posee dos esporoquistes, cada uno conteniendo cuatro esporozoitos. El periodo prepatente es de 7 – 12 días y el pasaje de ooquistes duran entre 15 y 45 días (Barriga, 2002).

4.4.2 Hospedero intermediario (esquizogonia): La infección es por ingestión de los esporoquistes, seguidos de al menos tres generaciones asexuales. En la primera los esporozoitos liberados de los esporoquistes invaden la pared intestinal y penetran en los capilares donde se localizan en las células endoteliales y sufren dos ciclos esquizogónicos. Un tercer ciclo asexual ocurre en los linfocitos circulantes, resultando merozoítos que penetran en las células musculares. Allí se enquistan y luego se dividen por un proceso de gemación o endodiogenia, dando lugar a bradizoítos con forma de banana contenidos en el quiste, que es el *Sarcocystis* maduro y es el estadio infectivo para los carnívoros hospedadores definitivos. De la ingestión de esporoquistes a la presencia de bradizoítos infectantes en músculos de los hospedadores intermediarios: generalmente 2 – 3 meses pero puede extenderse a 12 meses en algunas especies (Umquhart et al, 2001). En alpacas los quistes de *S. aucheniae* alcanzan su mayor tamaño y madurez entre 14 a 18 meses aproximadamente y *S. lamacanis* a partir de los 4 a 5 meses (Leguía et al, 1989a)

Figura 1: Ciclo biológico del *Sarcocystis* spp.



4.5 Epidemiología

4.5.1 En el parásito:

- ◆ Las especies que se conocen han demostrado ser altamente específicas para el HOSPEDERO INTERMEDIARIO, pero no para el hospedero definitivo; por ejemplo, esporoquistes de *S. Bovicanis* obtenidos de perros, no infectan a ovinos; igualmente *S. Ovicanis* también obtenidos de perros, no infectan a bovinos (Rojas, 1990).
- ◆ Tienen alternancia de generaciones, esto se debe a que tienen reproducción sexual en el predador y reproducción asexual en la presa (Rojas, 1990).
- ◆ La reproducción sexual no es patógena y los resultantes esporozoitos no son infectivos para el predador (Rojas, 1990).
- ◆ Los ooquistes pueden sobrevivir por varios meses en ambientes moderadamente húmedos y fríos, pero viven poco tiempo en climas secos y calurosos (Barriga, 2002).
- ◆ La infección puede efectuarse durante todo el año, sin embargo, los pastos se contaminan con mayor cantidad de ooquistes durante la época de lluvia, esparciendo los huevos en el pasto (Leguía et al, 1989a)
- ◆ La presencia de quistes de *Sarcocystis* macroscópicos se detecta mayormente en animales adultos. En un estudio se determinó que casi el 100% de animales mayores dos años tenían quistes microscópicos (Leguía, 1987).
- ◆ Los lugares más comunes de presentación de quistes son esófago, lengua, diafragma, músculos de la cara, intercostales y corazón (Cordero, 1999).
- ◆ La congelación de – 10 °C por 10 días las destruye; al igual que la cocción a 65 °C por 30 minutos y la salazón (Rojas, 1990).
- ◆ Cordero en 1999 menciona que las canales de bovinos sometidas a refrigeración a 2 °C durante 18 días los quistes permanecen viables. A - 20 °C, los quistes pierden la capacidad infectante en 3 días. En porciones musculares con quistes sometidos a temperaturas de 45 °C durante 5 – 6 minutos, la vitalidad de los quistes se mantiene, siendo necesarias temperaturas de 65 – 70 °C durante 10 minutos para lograr la muerte de los bradizoítos, por lo que

las piezas cárnicas refrigeradas que se comercializan en las carnicerías suponen una de las principales fuentes de contagio para los hospedadores definitivos.

- ◆ La supervivencia en el medio de los esporoquistes es muy grande, ya que en condiciones atmosféricas propias de climas templados pueden permanecer viables alrededor de 1 año; sometidos a temperaturas de 4 °C en frigorífico mantienen la capacidad infectante durante 2 años; por debajo de 0 °C son capaces de sobrevivir 2 meses, incluso son resistentes en condiciones de sequedad, donde mantienen su viabilidad durante 3 meses. El éxito de la supervivencia en el medio viene determinado por la biología del parásito, que entre otras razones se encuentra la de que los ooquistes ya salen esporulados con las heces, por lo que tienen que supereditarse a las limitaciones térmicas (Cordero, 1999).
- ◆ Los sarcocistos carecen de cuerpo de Stieda, son resistentes a la acción de los agentes químicos del medio (Rojas, 1990).

4.5.2 En el Hospedero:

- ◆ Cuando los perros alimentados con restos de carne cruda contaminada con *Sarcocystis*, se dejan libres, contaminan las pasturas con los ooquistes que eliminan. El hospedero intermediario contrae la infección al ingerir pastos contaminados con esporoquistes de sarcocystis eliminado por los predadores (Georgi et al, 1994).
- ◆ La alta prevalencia se asume a la alimentación de perros, que viven con el hombre del campo, con despojos (esófago, corazón, restos musculares) procedentes de las matanzas clandestinas (Cordero, 1999).
- ◆ Cordero en 1999 señala que otra fuente de contagio pueden ser los animales muertos no enterrados a los que tienen acceso animales predadores.
- ◆ La matanza clandestina de alpacas y llamas sin la respectiva evaluación veterinaria, conducen a que se incremente la enfermedad (Leguía et al, 1989a).

- ◆ La inspección veterinaria puede pasar desapercibida las canales parasitadas con microquistes, pudiendo ser destinada al consumo humano (Cordero, 1999).
- ◆ El manejo de los animales, a través de la cadena predador – presa, permiten la supervivencia del parásito. Pero al mismo tiempo ofrece el eslabón más estratégico para la ruptura de la transmisión, a través del manejo del predador u hospedero definitivo.
- ◆ Las características socioculturales del criador que permite el consumo de carne cruda parasitada a los perros y gatos (Rojas, 1990).
- ◆ La sarcocystiosis es poco patogénicos para el hospedero definitivo.
- ◆ Los hospedadores definitivos no desarrollan inmunidad y cada infección resulta en nuevas ondas de ooquistes que contaminan el ambiente (Barriga, 2002).
- ◆ La presencia de zorros en las granjas también se asocia a la infección por *Sarcocystis* en casos en los que los cadáveres de los animales infectados se dejan abandonados en el campo (Rojas, 1990).

4.6 Patología del *Sarcocystis*

4.6.1 En el hospedero definitivo:

La infección de *Sarcocystis aucheniae* en perros es asintomática y breve. Cualquier perro que haya tenido acceso a consumir carne cruda parasitada, eliminará esporoquistes de vez en cuando padeciendo de pocos o ningún trastorno. Por el contrario, la ingestión de un elevado número de esporoquistes de determinadas especies de *Sarcocystis* puede producir una grave enfermedad, e incluso provocar la muerte, en los hospederos intermediarios (Georgi et al, 1994).

Se ha demostrado experimentalmente, que los microquistes (*S. lamacanis*) pueden ser altamente patógenos en los perros. Así, un cachorro presentó a los 10 días post-infección, signos clínicos caracterizados por anorexia, pirexia (41º C), palidez de las membranas mucosas, diarrea muco sanguinolenta, incoordinación y postración, muriendo dos días después. A la necropsia se observó la mucosa del

yeyuno e ileon con contenido biliar, hiperémica, edematosa y congestionada, además de hemorragias longitudinales en mucosa de colon. Los otros cachorros del mismo estudio, presentaron una ligera diarrea mucosa entre los días 9 – 14 post-infección (Leguía et al, 1989b). En perros, tras la infección repetida resultaron periodos prepatentes más largos y periodos patentes más cortos (Merck, 2000).

4.6.2 En el hospedero intermediario

Muchas especies patógenas de *Sarcocystis* causan enfermedad aguda sólo en su hospedador intermediario, pero no en el hospedador definitivo. En los hospedadores intermediarios, el principal efecto patógeno es atribuible a la segunda generación esquizogónica en el endotelio vascular (Sam, 1988; Umquhart et al, 2001).

La severidad de los signos clínicos depende de la dosis de esporoquistes ingeridos y del estado inmune del hospedador. Sin embargo, no hay signos clínicos específicos para esta enfermedad (Dubey et al., 1989; Tenter, 1995).

Existen factores dependientes del hospedador se deben considerar principalmente, la dosis infectante, el ritmo de reinfección, el estrés, gestación, estado nutricional deficiente y lactación; como los predisponentes a favorecer la gravedad de la infección (Cordero 1999).

4.7 Signos clínicos

La sarcocystiosis clínica no se ha reportado en infecciones naturales de alpacas, inclusive habiéndose encontrado a la necropsia infecciones masivas, y en vida no se habían observado signos clínicos, aunque es posible que hayan pasado desapercibido (Leguía, 1987).

En los hospederos intermediarios los cuadros agudos se observan en las infecciones experimentales, iniciándose la enfermedad con un aumento de temperatura, y de la frecuencia cardiaca, seguidas por anorexia, anemia, pérdida de peso, disminución de la producción láctea, dificultad respiratoria, calambres musculares, debilidad, hipersalivación (Leguía et al, 1989a). En algunos casos se produjo la muerte de los animales. En el proceso crónico, los animales están aparentemente sanos, sólo se manifiesta disminución en la ganancia de peso.

Los hospederos definitivos pueden padecer un proceso intestinal producido por las formas evolutivas intracelulares, aunque si la dosis infectante es reducida, los trastornos pueden pasar desapercibidos (Cordero, 1999).

4.8 Diagnóstico

El diagnóstico in vivo de la sarcocystiosis aguda es difícil, debido a que los síntomas no son muy específicos y, por tanto, fácilmente confundible con otros procesos patológicos. No obstante, algunos datos clínicos como la anemia, la fiebre, sialorrea e incremento de los niveles de enzimas plasmáticas como la deshidrogenada láctica (LDH) pueden ofrecer un valor orientativo. Más eficaz resulta la utilización conjunta de estos, con criterios epidemiológicos (Cordero, 1999).

En camélidos sudamericanos, en casos agudos el diagnóstico se realiza mediante la evaluación epidemiológica y clínica de la enfermedad, complementada con la utilización de pruebas inmunodiagnósticas, como Elisa, hemoaglutinación indirecta entre otras (Ramírez et al, 1998, Cordero, 1999; Umquhart et al, 2001).

El diagnóstico de sarcocystiosis muscular es básicamente post – mortem y se basa en la observación macroscópica y microscópica de los quistes, que pueden verse principalmente durante la necropsia, o durante la inspección de canales en el camal. Estos quistes macroscópicos son globosos o como granos de arroz, de color blanco lechoso, se pueden encontrar en el esófago, lengua y otros músculos.

Otros métodos de diagnóstico microscópicos se basan en la observación de quistes libres de tejido cárnico que lo rodea, mediante la digestión artificial. El método de la tripsina es el más idóneo, puesto que tiene la ventaja de que se puedan obtener quistes intactos en los que puedan estudiarse la cubierta quística en detalle, la cual resulta de gran importancia para la identificación de especies de sarcocystis (Cordero, 1999).

Para el diagnóstico en el hospedero definitivo se puede realizar exámenes copro parasitológicos, para determinar la presencia de esporoquistes de *Sarcocystis* en la muestra. Entre los métodos más comunes se encuentran la

técnica de Willis, donde se usa una solución sobresaturada de sal con la finalidad que los ooquistes floten y se puedan obtener con mayor facilidad con el cubraobjetos; otro método es el de la centrifugación – flotación, este método nos permite una mayor reducción del tiempo y son más precisos (Soulsby, 1988; Atias, 1991).

4.9 Tratamiento

No existe un tratamiento específico para esta infección; en el hospedero definitivo dado la evolución corta y el carácter auto limitante del cuadro clínico, no se justifica una terapia específica. Los signos clínicos responden bien al tratamiento sintomático con antidiarreicos, antiespasmódicos y adecuada hidratación (Atias, 1991).

Leguía en 1999, indicó que en los hospederos definitivos no existe tratamiento profiláctico, ni terapéutico que eviten el desarrollo de ooquistes, ya que los coccidiostáticos no tienen efecto sobre las formas sexuales de este parásito. La quimioterapia en los hospederos intermediarios se halla todavía en fase de ensayo en el ganado vacuno, el amprolio (100mg/Kg P.V) diario por un periodo de 30 días muestra una cierta eficacia contra la esquizogonia endotelial. En ovejas el amprolio o la halofuginona (0.66mg/KG P.V) por vía oral durante 2 días experimentalmente permite evitar una enfermedad aguda (Mehlhorn et al, 1993). En alpacas también el amprolio en dosis de 50 a 100 mg /Kg. P.V por 30 días pueden prevenir la sarcocystiosis clínica sólo si se administran al inicio de la enfermedad (Leguía, 1999).

Cordero en 1999 indica que si se presentara cuadros de sarcocystiosis aguda se aconseja el uso de amprolio o salinomycin durante 2 semanas. No obstante, dada la diversidad de hospedadores y especies parasitarias, la efectividad es muy variable, aunque en la mayoría de los casos puede evitar la muerte de los animales. Los efectos de estas drogas es siempre sobre las formas evolutivas de la fase proliferativa del parásito y raramente sobre las formas quísticas (Cordero, 1999).

Drogas nuevas como el Triazinedione y Diclazuril han sido probadas con la finalidad de erradicar las formas asexuales del *Sarcocystis*. El diclazuril es un benzeneacetonitril anticoccidial que tiene actividad contra las etapas extraintestinales de *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*. Sin embargo esta droga puede usarse como un agente terapéutico en el tratamiento de la mieloencefalitis protozoaria equina (Lindsay, 2000; Dubey et al, 2001).

El diclazuril es utilizado en caso de tratamientos que no responden a terapias tradicionales, actúa inhibiendo las últimas fases de diferenciación celular. Produciendo muerte del parásito. La dosis es de 5 a 10mg/Kg/día, durante 28 días (Bentz y col, 2000).

Los medicamentos probados hasta la fecha son caros y no muy prácticos de administrar (Leguía et al, 1989^a). Además los CSA están continuamente infectándose y el efecto del fármaco es bastante corto. Por lo tanto la prevención y el control es lo más importante.

4.10 Control

Debido a que hasta el momento no se ha desarrollado ningún tipo de vacuna para proteger a los hospedadores intermediarios, sólo con carácter experimental se ha conseguido inmunizar animales con esporoquistes viables con el objeto de disminuir el efecto patógeno de las sucesivas infecciones (Cordero, 1999).

Los planes de lucha contra la sarcocystiosis se basan en cortar el ciclo biológico del parásito en los puntos más condicionales por la acción del hombre y por tanto más susceptibles de ser atacado, por ello se consideran los siguientes puntos:

4.10.1 Acciones sobre los hospederos definitivos:

- Educación sanitaria, mediante un energético programa educacional priorizando el importante rol que juega el hombre en la difusión de la enfermedad al dar de comer carne cruda a los perros (Leguía, 1987).

- Los perros y gatos de granjas no deberán estar en casas o acceder a los forrajes almacenados, no debe permitirse que estos salgan a defecar a los corrales donde los animales estén alojados (Umquhart et al, 2001).
- A los carnívoros se les debe alimentar con comida enlatada, seca o bien cocida y se debe tratar de evitar que cacen (Barriga, 2002).
- Limitar el número de perros en zonas ganaderas y eliminar perros vagos y zorros (Ramírez et al, 1998).

4.10.2 Acciones sobre la comunidad humana:

- No se debe dejar abandonado en el campo alpacas o llamas muertas, por diversos motivos los cuales pueden ser comidos por perros, zorros o lobos (Leguía et al, 1989).
- En un estudio realizado por Heydoon en 1972, Farger en 1975, Leek et al en 1978 y Gorman et al en 1984, demostraron que la cocción a 85° C por 5 minutos, la congelación a 9 – 10 °C por 10 días y la deshidratación de la carne ejercen un efecto letal para la viabilidad de los quistes de sarcocystiosis (Leguía et al, 1990b).
- Enseñar a los campesinos la forma como se transmite la enfermedad y perjuicios que ocasionan a los animales y al hombre (Leguía et al, 1989a).

4.10.3 Acciones sobre el camal:

- Inspección y decomiso de carcasas parasitadas, para evitar la difusión del parásito y para evitar la mala presentación comercial del producto cárnico (Rojas, 2004).
- Realizar un “control de sacrificio”, con la instalación de mataderos comerciales y rurales, de tal forma que se impida el acceso de los perros y se posibilite el tratamiento de las carcasas para que no sean infectivas al perro (Leguía, 1987).
- Centralizar la matanza de alpacas en camales urbanos o rurales, donde se realice la inspección sanitaria por el médico veterinario (Leguía et al, 1989a).

- No debe sacarse del camal carne o vísceras infectadas sin la autorización del médico veterinario (Leguía et al, 1989a).
- Prohibir la matanza clandestina o domiciliaria (Ramírez et al, 1998).
- Mejorar las condiciones higiénico – sanitarias de los camales urbanos y construir camales rurales (Ramírez et al, 1998).

4.11 Sarcocystina

La sarcocystina es una toxina de carácter proteico (Mansilla, 1993). La actividad neurotóxica fue demostrada por Hiepe et col en 1981, denominando al producto como sarcocystina. Este producto ha sido considerado como una endotoxina de acción en el músculo cardíaco y tejido nervioso gastrointestinal (Briggs et al, 1985).

Hiepe y col en 1981 afirman que la potencia de esta sustancia tóxica varía entre diferentes especies del parásito o que algunas especies de hospedadores son más resistentes a sus efectos que otros.

Se ha constatado que determinadas sustancias obtenidas a partir de extractos acuosos de bradizoitos lisados, sarcocystina, cuando se administran por vía intravenosa, son capaces de producir hemorragias, parálisis, edemas e incluso la muerte (Cordero, 1999).

Según los estudios realizados con lisados de macroquistes se ha determinado que la toxina destruye en primer lugar las membranas de las organelas. También actúan sobre los procesos generadores de energía o sobre otros procesos metabólicos. Los conejos y los humanos posiblemente presentan células con receptores de superficie para esta toxina. No así en los ratones y cobayos.

La toxina ocasiona alteración de la membrana celular, presentándose una excesiva captación de agua y en consecuencia cese de la actividad metabólica de organelas o de la matriz citoplasmática.

Según Boy en 1967, las toxinas modifican la presión osmótica del citoplasma de modo que las células absorben líquidos de los tejidos circundantes.

La razón por la que el quiste in situ no causa efectos tóxicos, como si sucede con los lisados, tal vez pueda atribuirse que en estos últimos, la estructura química de la toxina se encuentra en forma libre (Mansilla, 1993).

Tras la muerte de los sarcosporidios la sarcocystina liberada desarrolla su acción tóxica – degenerativa sobre el tejido circundante y se produce la calcificación del parásito y de la estructura que lo rodea (Martínez et al, 1999).

4.12 Importancia en salud pública:

La sarcocystiosis es también importante en salud pública, ya que el consumo de carne infectada en forma cruda o mal cocida produce un cuadro de gastroenteritis, debido a la acción de sustancias tóxicas dentro de los quistes (Acha et al, 2003).

Mansilla en 1993, menciona que es posible que esta sustancia tóxica tenga afinidad por las células del tracto gastrointestinal de humanos, lo cual explicaría el cuadro clínico que se presenta al ingerir carne cruda insuficientemente cocida infestada con el parásito.

La ingestión de carne de alpaca o llama infectada con micro o macroquistes crudo o insuficientemente cocidos produjo en monos diarreas, náuseas, cólicos escalofríos, entre las 3 a 8 horas después de dicha ingestión durante 3 días seguidos, después de lo cual los animales se recuperaron sin ningún tratamiento (Leguía et al, 1990a).

En personas voluntarias, después de la ingestión de carne de cerdo infectada con *S. suishominis*, se observó vómitos, diarreas, sudoración y escalofríos, empezando de 6 a 24 horas luego del consumo y continuaron por 12 a 24 horas después. El consumo de carne de vacuno infectada con *S. boviominis* fue seguido por el malestar abdominal y, en algunos voluntarios, por náuseas y diarreas; los esporoquistes se eliminaron entre 13 y 39 días después de la ingestión y continuaron por 9 a 179 días. La enteritis eosinofílica y enterocolitis obstructiva ulcerativa pueden ser complicaciones ocasionales (Flecknell, 1999).

4.13 Importancia económica:

Los efectos del parasitismo se manifiestan, por un lado, indirectamente, a través de disturbios nutricionales y reproductivos, las manifestaciones tóxicas, las tasas de conversión alimenticia, el crecimiento, la producción láctea, de vellón y el costo de antiparasitarios; por otro lado, tales efectos se manifiestan directamente, como en el caso de la mortalidad que es sumamente baja y de los decomisos de vísceras y carcasas no aptas para el consumo humano (Rojas, 1990).

Si bien es cierto en la sarcocystiosis no se ha demostrado signos clínicos en alpacas naturalmente infectadas, se considera una enfermedad sumamente importante por su amplia difusión, trayendo como consecuencia el decomiso de las carnes con pérdidas que se pueden estimar en 300000 dólares anuales (Leguía et al, 1990).

Las pérdidas por infecciones con *Sarcocystis* han sido estimadas en 20% anuales atribuibles directamente a los parásitos en alpacas (Leguía et al, 1991).

La presencia de quistes macroscópicos en la carne ocasiona grandes pérdidas económicas, debido a la disminución de la producción y al decomiso de las canales que presentan estos macroquistes, el cual puede llegar al 9% del total de animales beneficiados (Leguía et al, 1990a).

5. TRATAMIENTOS QUÍMICOS DE LA CARNE

5.1 Curado

5.1.1 Definición del curado

Es la conservación de la carne mediante la adición de sustancias curantes, como la sal. Con este sistema se obtiene un producto cárnico conservable, además de un buen color, olor y sabor. Las sustancias curantes penetran en la carne y proporcionan un ambiente menos favorable para el desarrollo de los microorganismos (Shweigert et al, 1971).

5.1.2 Sustancias curantes

Para lograr un buen curado se necesita preparar una mezcla de sales compuestas de: cloruro de sodio, nitrato sódico, nitrito, azúcar entre otros componentes auxiliares.

5.1.2.1 Sal (cloruro de sodio) no sólo es el condimento más importante, sino que posee en la tecnología de los alimentos un amplio abanico de utilizaciones (Amerine et al, 1965)

5.1.2.1.1 Funciones de la sal:

- La adición de sal a una parte cruda, a las dosis clásicas, disminuye el pH de las proteínas aproximadamente en 0.2 unidades (Hamm, 1965) y lo lleva por tanto a un pH de 5.0 aproximadamente. La diferencia entre las proteínas y el pH del medio esta aumentada, lo que se traduce en un aumento del poder de retención de agua.
- Durante el curado, hay un flujo inicial hacia afuera de agua y proteínas solubles desde el músculo hacia la salmuera, a causa de la mayor presión osmótica en la última, eventualmente se invierte. Esto es debido a que la sal se difunde hacia el interior, formando un complejo con las proteínas de la carne que tiene mayor presión osmótica que la de la salmuera. Normalmente la difusión de cloruro de sodio dentro de los músculos es rápida, estableciéndose el equilibrio en unas 48 horas en salmuera al 25% (Lawrie, 1998).
- La penetración de la sal en la carne está en relación con el establecimiento de un equilibrio entre las concentraciones de sal en el interior y el exterior de la pieza de carne. La velocidad de penetración de la sal disminuye por tanto a medida que se aproxima a este equilibrio (Girard, 1991).

Por otra parte existen diversos factores que tienen influencia en la rapidez con la que se establece el equilibrio, se trata de factores tanto externos como internos de la carne.

5.1.2.2 Nitritos y nitratos:

Los nitratos se utilizan en el curado en las formas de nitrato potásico o de nitrato sódico (Girard, 1991).

Polenski en 1981 estableció que el nitrato era reducido a nitrito por su acción bacteriana, Lheman en 1899, estableció que el color característico de los productos curados era definido por el nitrito (Shweigert et al, 1971).

El nitrito posee por si mismo un poder tóxico, simultáneamente a su empleo se pusieren en marcha los correspondientes controles en su uso, con el fin de proteger la salud de los consumidores (Ockerman, 1978).

La toxicidad propia del nitrato está relacionada con su poder oxidante, tiene en efecto la propiedad de oxidar la hemoglobina sanguínea en metahemoglobina que bajo esta forma no es apta para jugar su papel de transportador de oxígeno y causa una hipoxia a nivel de los tejidos. El organismo humano es, en los adultos, capaz de luchar contra esta agresión ya que está equipado de un sistema enzimático apto para invertir este estado, y transforma metahemoglobina en hemoglobina reducida. Por el contrario, el organismo de los neonatos no posee este sistema enzimático y los riesgos de intoxicaciones graves son entonces mucho mayores, se han reportado casos mortales en personas que habían consumido sopas preparadas con el agua de las legumbres ricas en nitratos reducidos a nitritos (Girard, 1991)

5.1.2.3 Azúcares:

Los azúcares utilizados son la sacarosa, la lactosa, la glucosa y los derivados del almidón. Su papel es el reforzar el poder reductor del medio y sobre todo el de servir de medio nutritivo a las bacterias responsables de la reducción de los nitratos (Girard, 1991).

5.1.3 Aspectos organolépticos:

El curado a diferencia de otros métodos, la carne curada tiene aspecto parecido al fresco; es más las carnes curadas son más valiosas por sus características organolépticas (Lawrie, 1998).

Durante el curado se observan que el color de la carne va cambiando paulatinamente. (Girard, 1991).

5.1.4 Técnicas del curado:

El curado de la carne para ser más efectivo necesita realizarse en una cámara de refrigeración a una temperatura de 3 a 5° C y a 90% de Humedad Relativa (H.R) en locales oscuros y bien limpios (Téllez, 1992).

Para aplicar el curado hay diversos métodos tales como:

5.1.4.1Curado seco: esta técnica consiste en preparar una mezcla en seco de sal común con nitrito y azúcar, según fórmula (Cuadro 4). Se procede a frotar todos los lados de la pieza de carne, sobre una rejilla, en forma íntegra y pareja, logrando humedecer estas sales con el jugo de la carne y obteniendo una verdadera capa de sales sobre la misma; las piezas de carne se colocan en capas y añadiendo siempre la mezcla, carne, sales, carne, sales, etc. (Foto 3). Otra capa mayor de sales en la parte superior, donde se coloca una pesa para comprimir. El curado seco puede durar de 7 a 30 días, varía según la cantidad, el propósito y el tipo de fórmula. Cada 7 días se debe cambiar de posición frotándose con la mezcla si fuera necesario (Téllez, 1992).

Son responsables varios factores de la duración del curado seco; en primer lugar la penetración de la sal se produce con mayor rapidez cuanto más delgada sea la pieza; por ello las grandes piezas se cortan con frecuencia y se extienden en plano y por separado (Girard, 1991).

Durante el proceso de curado es necesario observar el estado y la calidad de las carnes, reparando aquellas que pudieron estar malogradas, en esta técnica hay una merma de 5 al 8 % (Téllez, 1992).

5.1.4.2Curado Húmedo: consiste en utilizar el agua como vector de las sustancias, sumergiendo las carnes a curar en una salmuera curante, compuesta de sal corriente, nitrato, azúcar y agua hervida (Foto 4). En este método se presenta una completa disolución de los ingredientes solubles, dando como resultado una distribución uniforme. Para este proceso se necesita depósitos especiales de madera, eternit, plásticos; bien limpios y en ellos sumergir la carne por un periodo que puede variar entre 2 a 25 días, esto a razón del tamaño, composición la salmuera y condiciones del curado (Téllez, 1992).

5.1.4.3Curado por inyección: Es una técnica que consiste en preparar una salmuera curante condimentada que se introduce al interior de la carne por medio de una inyección a presión; se inyecta entre el 10% al 15% del peso de la carne (Téllez, 1992). La máquina de inyección de uso más frecuente contiene gran

Cuadro 4: Formulación de salmueras y sales para el curado de carne

Curado Seco

A. (Piernas)	Cantidad	B: (Tocino)	Cantidad
Sal	20 Kg.	Sal	22 Kg.
Polvo de Praga	5 Kg.	Polvo de Praga	8 Kg.
Azúcar	5 Kg.	Azúcar	10 Kg.

Usar el 4 % del peso del Jamón

Usar el 4% del peso de la carne

C:	Cantidad	D:	Cantidad
Sal	100Kg.	Sal	25 g.
Nitrato potásico	0.5 a 1Kg.	Nitrato Potásico	1.5 a 2.0 g.
Azúcar	1.0 a 2.0 Kg.	Azúcar	2.0 g.

Frotar y Untar bien en las Carnes

Usar por cada Kg de Carne o Pasta

Curado húmedo

A. (Piernas)	Cantidad	B. (Brazuelo)	Cantidad
Agua	100 L	Agua	100 L
Sal	10 Kg.	Sal	9.0 Kg.
Polvo de Praga	3.3 Kg.	Azúcar	1.8Kg.
Azúcar	1.0 Kg.	Cura Regal	10Kg.
C: Tocino	Cantidad	D:	Cantidad
Agua	10 L.	Nitrato Potásico	2g.
Cura Seca	1.5 Kg.	Nitrato Sódico	1g.
		Azúcar	5 a 10 grs

Por litro de salmuera corriente

Foto 3: Preparación del Curado seco



Foto 4: Curado húmedo



número de agujas dispuestas en varias filas sucesivas que se hunden y elevan continuamente. También existen técnicas de curado en vena o arteria, estos métodos frente a otros métodos, aprovechan el sistema circulatorio sanguíneo. (Girard, 1991).

5.2 Ahumado:

5.2.1 Definición:

Es la operación que consiste principalmente en someter un producto alimentario a la acción de productos gaseosos que se desprenden en la combustión de ciertos vegetales. En sus orígenes, se buscaba aumentar la conservabilidad del producto tratado; por esto es, junto con la salazón y la desecación, uno de los 3 procedimientos más antiguos de conservación de los alimentos (Girard, 1991).

5.2.2 El humo:

Las mejores maderas a utilizar en el ahumado son las maderas duras, no resinosas, por ejemplo: aliso, roble, haya, adebul, algarrobo, laurel, cedro, coronta, etc. No conviene maderas resinosas o ricas en otras sustancias, que impregnen mal gusto y mal olor.

El humo generalmente producido por la combustión lenta de aserrín procedente de maderas duras, inhibe el crecimiento microbiano, retarda la oxidación de la grasa e imparte aroma a la carne (Téllez, 1992)

5.2.3 Efecto del humo:

El humo actúa sobre las carnes en base a sus componentes, al tiempo de exposición y al grado de temperatura. De esta forma, se conoce que los componentes químicos encontrados en el humo, son muchos y que ellos varían, según el tipo de madera, leña o aserrín utilizado. Entre estos compuestos químicos se tiene: ácidos, bases orgánicas, aldehídos, cetonas, alcoholes, hidrocarburos, fenoles, cresol o cresota (Téllez, 1992).

Los ácidos y fenoles, actúan como bactericidas, los que influyen en el aroma son los fenoles, aldehídos aromáticos y cetonas y los responsables del color amarillo rojizo brillante, son la cresota y los alquitranes. Como desinfectante actúan el alcohol metílico y el formaldehído (Téllez, 1992).

La detección de compuestos carcinógenos tales como el 3,4 – benzopireno y el 1, 2, 5, 6 – fenantreceno ha inducido a investigar el efecto de las condiciones de generación de humo sobre su producción. Estos compuestos se forman a partir de lignina por encima de los 350° C. Aunque se piensa que el riesgo de carcinogénesis por el consumo de carne ahumada es sumamente pequeño (Lawrie, 1998).

5.2.4 Técnicas del ahumado:

Se pueden apreciar 3 métodos de ahumado.

5.2.4.1 Ahumado en frío: en este tipo de ahumado la temperatura se mantiene entre 12 a 30°C (cuadro N° 5), esta temperatura se regula bien por la admisión de aire o bien por el paso de humo por un intercambiador (Girard, 1991).

Para la producción de humo se utiliza generalmente aserrín, cuando se desea en ahumado en frío húmedo, se humedece el aserrín y de esta forma, el humo va evaporando el agua añadida. Dependiendo del producto a ahumarse, se puede tener de 1 a 6 días. Generalmente se aplica para jamones, costillares, tocinos, chorizos, entre otros, es decir productos de larga duración. La merma producida por el ahumado en frío es de aproximadamente 2 – 5% (Téllez, 1992).

5.2.4.2 Ahumado en caliente: según la temperatura a la cual se hace esta operación, el producto sufre un comienzo de cocción o una verdadera cocción (Foto 5). El ahumado caliente puede comenzar a los 33 – 35°C, para terminar a los 50 – 55°C e incluso a los 75 – 80° C (Girard, 1991).

En esta última eventualidad, es indispensable inyectar vapor de agua en el ahumador para evitar la desecación de los productos. El ahumado entonces se acompaña de las operaciones de estufado y de cocción (Shweigert et al, 1971).

Existen esquemas en las que en la primera etapa se desarrollan de forma que se obtenga en el corazón del producto una temperatura próxima a los 54 – 55°C. a esta temperatura, las proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas coagulan, las proteínas del conjuntivo en cambio no se afectan. La superficie conferida a los productos es lisa (Téllez, 1992).

Cuadro 5: Sistemas de Ahumado

Características	En frío	En caliente
Tº de ahumado	12 – 30 °C	50 – 55 °C
Tiempo de ahumado	1 – 7 días hasta varias semanas	Algunas horas
Tipos de productos a ahumar	Embutidos crudos, Cocidos y algunos productos curados	Embutidos frescos de corta conservación
Merma de los Productos Ahumados	2 – 5 %	20 – 25 %

Fuente: Paltrinieri – Meyer (1984)

La cocción del producto y la estabilización bacteriana se efectúan en la segunda etapa de ascenso de la temperatura. A los 65°C las proteínas del tejido conjuntivo se contractan (Girard, 1991).

El tiempo del ahumado es de algunas horas, mientras que el porcentaje de merma es de 20 – 25% (Téllez, 1992).

5.2.4.3 Ahumado electrostático: se considera como el más novedoso, con este método se aprovecha mejor y en mayor cantidad los efectos del ahumado, es más rápido y se consigue menos pérdida. Es un método más caro y su manejo requiere personal debidamente entrenado. La instalación consiste en: un túnel de ahumado, con sus dispositivos de transportador de cadena continua, una zona de escaldado por radiaciones infrarrojas y una zona de enfriamiento; así se logra el ahumado con aserrín y se controla la temperatura y la intensidad de humo, por medio de controles automáticos (Girard, 1991)

5.3 Marinado

5.3.1 Definición

En términos simples, puede definirse como la incorporación de líquido “sazonado” a las carnes con el propósito de mejorar el sabor, textura y jugosidad (Price y col, 1994), El Dr. Roger Mandigo en el 2000 lo define como la adición de salmuera, de un adobo o vinagre a las carnes rojas, de aves o pescado, antes de su cocción, para enriquecer su sabor.

El marinado es un proceso de valor agregado, que como muchos otros (empanizados, glaseado, enchilado, sazonado, etc.), (Foto 6) ha incorporado conocimientos científicos, tecnología y la aplicación de procedimientos operacionales estandarizados, a procesos cotidianos utilizados en muchos hogares como propósito fundamental de enriquecer las propiedades sensoriales de las diferentes carnes (Mandigo, 2000 y Freixenet, 1993).

El interés de los consumidores y consecuentemente de los procesadores de carnes ha sido cada vez mayor por las carnes marinadas. Debido a que además

Foto 5: Preparación del ahumado caliente



Foto 6: Carne marinada



de mejorar la jugosidad, textura y sabor, este concepto extiende el horizonte a la creación de nuevos productos (Jones, 2000; Rocha, 2000 y Mandigo, 2000).

5.3.2 Ingredientes utilizados

Dependiendo del tipo de productos que se desea elaborar serán los tipos de ingredientes y las cantidades utilizadas. En este sentido, el marinado puede efectuarse con las llamadas salmueras livianas que consideran muy pocos ingredientes y en bajas dosis, cuyos componentes principales son:

5.3.2.1 Cloruro de sodio: El propósito funcional básico de incorporar sal para el marinado de la carne es, mejorar los atributos sensoriales, especialmente sabor.

Otras propiedades adicionales son reducir la actividad de agua, reduciendo la disponibilidad de ésta a los microorganismos y favorecer la solubilidad de las proteínas mejorando con ello la textura (Fenema, 2000; Waters, 2000 y Mandigo 2000).

5.3.2.2 Ácidos: El ácido acético, en su forma de vinagre, que es esencialmente una disolución de este ácido en agua, mas los aromas procedentes del vino y los formados en la acidificación, se utiliza como conservantes al menos desde hace 5.000 años.

La acción conservante del ácido acético es un efecto añadido en aquellos productos en los que la acidez o el aroma típico que confiere son deseables o característicos, como en los escabeches, salmueras y encurtidos (Xargayó y col, 2003).

5.3.2.3 Fosfatos: Los niveles máximos de fosfatos están regulados en la mayoría de los países, el valor máximo permitido es de 0.5% (Fenema, 2000, Rocha, 2000, Price, 1994, Freixenet, 1993).

5.3.2.4 Sabores: Los sabores utilizados son todos naturales y su origen principal lo constituyen los vegetales.

La aplicación fundamental de las salmueras livianas está orientada a las carnes de aves y carnes rojas frescas (Rocha, 2000 y Freixenet, 1993).

Las llamadas salmueras pesadas que habitualmente consideran el uso de diversas sales, proteínas e hidrocoloides son aplicadas para la fabricación de cecinas especialmente (Lagares y Freixenet, 1991).

5.3.3 Técnicas del marinado

Existen diversas formas de realizar este proceso, en términos simples se pueden agrupar en 4 sistemas:

5.3.3.1 Inmersión estática:

Este es el sistema más simple y más antiguo de aplicar salmuera. Consiste básicamente en permitir el ingreso de los ingredientes de la salmuera al interior de la carne solo con el paso del tiempo y sin aplicar ninguna fuerza mecánica. Esta ha sido una práctica doméstica común y actualmente aún se utiliza en hogares aplicando inmersión en soluciones de agua, ácidos, sal y especias.

Su uso industrial es muy limitado debido a la enorme variabilidad en los productos finales y a los largos tiempos de espera para lograr el objetivo (Price et al, 1994, Mandigo, 2000 y Waters, 2000).

5.3.3.2 Inmersión dinámica:

Este es un sistema ampliamente utilizado especialmente en la industria de cecinas debido a que además de favorecer el ingreso de la salmuera al interior de la carne, es un proceso que extrae proteínas desde la carne, las cuales tienen una importante función de ligado que es fundamental en la fabricación de jamones y productos similares a base de trozos de carne (Mandigo, 2000)

5.3.3.3 Marinado por Inyección:

Corresponde al sistema que ha experimentado los mayores avances tecnológicos orientados a lograr productos de alta calidad en términos sensoriales y microbiológicos. La mayoría de las inyectoras existentes en el mercado utilizan bombas que impulsan la salmuera o marinado a través de agujas con agujeros de 1 mm o más de diámetro, depositando el marinado durante su recorrido descendente a través de la carne, formando un depósito de salmuera en la zona de penetración de la aguja. Debido a que es un proceso riguroso y con la posibilidad de mantener las variables controladas, a pesar de su elevada

inversión, es ampliamente utilizado en la industria cárnica y de salmónidos en donde se demanda productos de elevada calidad (Mandigo, 2000, Rocha, 2000)

5.3.3.4 Marinado Mixto:

Básicamente consiste en pasar productos por dos sistemas de marinado, en primer lugar por inyección y luego inmersión dinámica. Es el sistema preferido en la industria de cecinas y bastante utilizado en el marinado de carnes rojas (Muller, 1990).

6. DESNATURALIZACIÓN DE PROTEÍNAS:

Cuando la proteína no ha sufrido ningún cambio en su interacción con el disolvente, se dice que presenta una estructura nativa. Cualquier alteración de la estructura nativa que modifique su interacción con el disolvente y que provoque su precipitación dará lugar a una estructura desnaturalizada (Lesk, 2000)

La desnaturalización provoca diversos efectos en la proteína:

1. Cambios en las propiedades hidrodinámicas de la proteína: aumenta la viscosidad y disminuye el coeficiente de difusión.
2. Una drástica disminución de su solubilidad, ya que los residuos hidrofóbicos del interior aparecen en la superficie.
3. Pérdida de las propiedades biológicas.

La consecuencia más significativa de la desnaturalización es que las proteínas pierden su actividad biológica característica; por ejemplo, al calentar las enzimas se suele perder su capacidad catalítica (Lehninger, 1987).

Los agentes que provocan la desnaturalización de una proteína se llaman agentes desnaturalizantes. Se distinguen agentes físicos (calor) y químicos (detergentes, disolventes orgánicos, pH, fuerza iónica) (Lehninger, 1987). Es posible precipitar proteínas de manera selectiva mediante cambios en:

- la polaridad del disolvente
- la fuerza iónica
- el pH
- la temperatura

6.1 Efecto de la polaridad del disolvente sobre la estructura de las proteínas

La polaridad del disolvente disminuye cuando se le añaden sustancias menos polares que el agua como el etanol o la acetona. Con ello disminuye el grado de hidratación de los grupos iónicos superficiales de la molécula proteica, provocando la agregación y precipitación. Los disolventes orgánicos interaccionan con el interior hidrofóbico de las proteínas y desorganizan la estructura terciaria, provocando su desnaturalización y precipitación (Lesk, 2000)

6.2 Efecto de la fuerza iónica sobre la estructura de las proteínas

Un aumento de la fuerza iónica del medio, también provoca una disminución en el grado de hidratación de los grupos iónicos superficiales de la proteína, ya que estos solutos compiten por el agua y rompen los puentes de hidrógeno o las interacciones electrostáticas, de forma que las moléculas proteicas se agregan y precipitan (Lesk, 2000).

6.3 Efecto del pH sobre la estructura de las proteínas

Los iones H^+ y OH^- del agua provocan efectos parecidos, pero además de afectar a la envoltura acuosa de las proteínas también afectan a la carga eléctrica de los grupos ácidos y básicos de las cadenas laterales de los aminoácidos. Esta alteración de la carga superficial de las proteínas elimina las interacciones electrostáticas que estabilizan la estructura terciaria y a menudo provoca su precipitación (Lesk, 2000).

6.4 Efecto de la temperatura sobre la estructura de las proteínas

Cuando la temperatura es elevada aumenta la energía cinética de las moléculas con lo que se desorganiza la envoltura acuosa de las proteínas, y se desnaturalizan. Asimismo, un aumento de la temperatura destruye las interacciones débiles y desorganiza la estructura de la proteína, de forma que el interior hidrofóbico interacciona con el medio acuoso y se produce la agregación y precipitación de la proteína desnaturalizada (Lesk, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS:

1. LUGAR DE ESTUDIO:

El presente estudio se realizó en los Laboratorios de Salud Pública y Salud Ambiental, Parasitología, Inmunología y Patología Clínica Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor San Marcos localizada en el distrito de San Borja, Lima – Perú.

2. MATERIALES EXPERIMENTALES

Para el presente estudio se utilizaron como materiales experimentales la carne de llamas parasitadas macroscópicamente con *Sarcocystis*. Cachorros caninos como hospederos definitivos para evaluar la viabilidad de los quistes de *Sarcocystis* y conejos para estudiar la toxicidad de la toxina de los quistes.

2.1 Obtención y preparación de la carne de llama parasitada con *sarcocystis*:

Las carnes parasitadas (Foto 7) fueron obtenidas del camal de Huancavelica procedentes de seis llamas adultas (machos y hembras). Cada animal fue beneficiado de acuerdo a las normas sanitarias establecidas (aturdimiento por conmoción, sangría, degüello, desollado y eviscerado) (Vilca, 1991, Warris, 2003).

La zona corporal mas parasitada fue el cuello, y fueron seleccionados aquellos con alta incidencia de quistes macroscópicos, entre los cuales se pudo notar algunos de color blanquecinos-brillante y de consistencia blanda, de forma de arroz de 0.5cm de longitud y otros de color amarillento-opaco y duros al tacto; los

cuales corresponderían a quistes viables y no viables respectivamente (Ayala, 1999), siendo los primeros utilizados para el presente estudio. La carne fue fileteada a una longitud entre 15 y 20cm con un grosor de 0.5cm aproximadamente; toda la carne fileteada fue dividida en 5 porciones con cantidades similares de quistes.

2.2 ANIMALES:

2.2.1 Obtención y preparación de los perros

Para comprobar la viabilidad de los macroquistes de las carnes tratadas con métodos químicos, se utilizaron 12 cachorros de aproximadamente 4 – 6 meses de edad (hembras y machos), los cuales fueron mantenidos en cuarentena por un periodo de 30 días, en los caniles de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los caniles fueron flameados cada 15 días y desinfectados diariamente con lejía y detergente.

Los animales, previo a su distribución en los caniles (Foto 8), fueron evaluados clínicamente y tratados en caso de detectarse alguna anomalía; por norma todos fueron desparasitados externa e internamente y vacunados contra enfermedades virales y bacterias. Se utilizó Praziquantel y Febendazol, en dosis de 50 mg / Kg. de peso vivo para el parasitismo interno, una semana después recibieron la segunda dosis y a la tercera semana se realizó un examen coproparasitológico a fin de comprobar la ausencia de parásitos internos para el inicio del presente estudio. Para el parasitismo externo se usó Fipronil en aerosol en dosis de 6ml/Kg. de peso vivo.

Las enfermedades como el distemper, hepatitis, parvovirus, parainfluenza y leptospirosis fueron prevenidas con la vacuna respectiva (NOBIVAC® DHPPI), con un refuerzo luego de 21 días.

Los cachorros fueron alimentados con una ración de 200 g. / animal/ día de un alimento concentrado comercial (Mascota Combo) y agua ad libitum. Los animales durante todo el periodo experimental estuvieron aislados, libres de contacto entre grupos de experimentación y libres de contacto con otros animales.

Foto 7: Carne de llama parasitada con Sarcocystis aucheniae



Foto 8: Distribución de los cachorros en los caniles



2.2.2 Obtención y preparación de los conejos

Para verificar la letalidad de proteínas de macroquistes provenientes de carnes tratadas mediante métodos químicos, se utilizaron 30 conejos (machos y hembras) de 4 – 5 meses de edad, de raza Nueva Zelanda, provenientes del Bioterio de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Estos animales fueron distribuidos en jaulas desinfectadas (5 animales / jaula) y todas ubicadas en un solo ambiente; donde permanecieron en cuarentena por un periodo de 30 días para verificar su estado sanitario. La limpieza de las conejeras fue diaria durante todo el proceso experimental.

Los conejos recibieron una alimentación diaria a base de concentrado comercial (Conejina R) (100g/animal), complejo B y agua *ad libitum*.

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.1 Tamaño de muestra:

El tamaño de la muestra de conejos para evaluar la toxicidad de la proteína de los quistes fue determinado con la formula reportada por Snedecor & Cochran (1989):

$$n = \left[\frac{Z(a) + Z(b)}{p_1 - p_2} \right]^2 * (p_1 * q_1 + p_2 * q_2)$$

Donde:

- **Z(a)** = valor de la tabla para el nivel de 95% de confianza = 1.64
- **Z(b)** = valor de la tabla para la potencia de 90% = 1.64
- **p₁** = proporción en la población 1= 0.90.
- **p₂** = proporción en la población 2= 0.01.
- **p₁ * q₁** = varianza de la proporción en la población 1 = p₁ * (1 - p₁)
- **p₁ * q₂** = varianza de la proporción en la población 2 = p₂ * (1 - p₂)

$$n = 3.025$$

De acuerdo a este análisis se necesitó como mínimo tres conejos por grupo tratamiento, sin embargo en el presente estudio cada grupo estuvo formado por 5 animales.

4. DISEÑO EXPERIMENTAL:

4.1 Metodología de los Tratamientos químicos aplicados a la carne parasitada con Sarcocystis:

- 1 Grupo1: MARINADO:** Cada 100g de carne fue tratada con 200 ml de vinagre (5% ácido acético) y 5g. de sal y este preparado fue inmediatamente refrigerado por 48 horas, luego se procedió a lavar la carne.
- 2 Grupo 2: AHUMADO:** La carne fileteada fue ahumada a 60° C en el Ahumador accionado con carbón y coronta seca, durante un periodo de 2 horas. La temperatura del ahumador fue monitoreada con un termómetro específico (Physitemp ret-1).
- 3 Grupo 3: CURADO SECO:** Para dos kilos de carne se preparó una mezcla de 1 kilo de sal +1.01g de nitrito+ 250 g. de azúcar; luego la carne fue fileteada y sobre una rejilla cada vez que un filete fue colocado fue inmediatamente tratada (curada) con parte de la mezcla preparada, utilizándose similar cantidad de la mezcla para los posteriores filetes que fueron colocándose sucesivamente y al final se utilizó un contrapeso para facilitar el drenaje de liquido de la carne, seguidamente toda la carne tratada sobre la rejilla fueron colocados en un recipiente y refrigerado por 10 días, al final del cual toda la carne fue removida y lavada y luego ser sumergida en agua hervida fría por 24 horas a fin de eliminar las sales.
- 4 Grupo 4: CURADO HÚMEDO:** A 10 litros de agua hervida se le agregó 1 kilo de sal + 1.32g de nitrito + 100 g. de azúcar; en esta solución se sumergió 2 kilos de carne fileteada y refrigerado por un periodo de 10 días, al final del cual la carne fue removida y lavada y luego sumergida en agua hervida fría por un periodo de 24 h, para eliminar las sales.
- 5 Grupo 5: CONTROL POSITIVO:** Carne cruda fresca no tratada

Toxicidad en conejos de los quistes de *sarcocystis* provenientes de carnes tratadas con métodos químicos

La toxicidad de la toxina proteica proveniente de las carnes tratadas mediante métodos químicos, fue evaluada en 30 conejos distribuidos en 6 grupos con 5 conejos cada uno (Cuadro 6). Se registró el peso corporal de todos los conejos, información que fue utilizada para calcular la dosis del inóculo.

Para la preparación del inóculo, se extrajo los macroquistes de las carnes tratadas y no tratadas y conservadas en solución salina fosfatada 0.15 M (pH 7.2.), para luego ser sonicadas para la preparación de un lisado para obtener la proteína no purificada, constituyendo este el inóculo; la dosis que se aplicó a cada conejo fue de 100µg del inóculo / Kg. de peso vivo, vía subcutánea. Al grupo control negativo se le aplicó solo suero fisiológico.

El efecto de la toxicidad fue evaluada por un periodo de 27 horas post-inoculación, a través de los signos clínicos que presentaron los conejos; hiperemia, postración, pupila contraída, disnea, diarrea; la temperatura rectal fue registrada previo al inóculo y luego 1, 4, 8 y 16 horas post – inoculación. Los animales que murieron fueron sometidos a necropsia.

4.3 Viabilidad de los quistes de *sarcocystis* provenientes de carnes tratadas con métodos químicos

La viabilidad de los quistes de carnes tratadas con métodos químicos fue evaluada en 12 cachorros de ambos sexos (2 machos y 10 hembras) de 4 – 6 meses de edad, que fueron distribuidos en 6 grupos de 2 animales cada uno (Cuadro 7), de los cuales cuatro grupos consumieron carne parasitada con *Sarcocystis* previamente tratada con un método químico y los dos últimos fueron grupos controles, de los cuales, en el primero los cachorros consumieron carne parasitada sin ningún tratamiento (control positivo) y en el segundo consumieron sólo alimento comercial (control negativo). Cada porción de carne parasitada que se le proporcionó a cada animal tuvo aproximadamente entre 150 – 200 macroquistes.

Cuadro 6 Diseño de los Grupos de tratamientos químicos de carne parasitada con *Sarcocystis* para el ensayo de toxicidad proteica de los macroquistes

TRATAMIENTO QUÍMICO	NÚMERO DE CONEJOS
Marinado	5
Ahumado	5
Curado Seco	5
Curado Húmedo	5
Grupo control positivo	5
Grupo control negativo	5

Cuadro 7 Diseño experimental de los Grupos de tratamientos químicos de carne parasitada con *Sarcocystis* para el ensayo de viabilidad de quistes.

TRATAMIENTO QUÍMICO	NÚMERO DE PERROS
Marinado	2
Ahumado	2
Curado Seco	2
Curado Húmedo	2
Grupo control positivo	2
Grupo control negativo	2

El efecto de los métodos químicos y controles fueron evaluados a través de la detección diaria de esporoquistes en las heces de los cachorros, a partir del día 9 hasta el día 30 post – ingestión.

5. TÉCNICAS DE EVALUACIÓN

5.1 Toxicidad de los quistes de *Sarcocystis aucheniae* provenientes de carnes tratadas mediante tratamientos químicos

5.1.1 Preparación del inóculo:

Se preparó un Lisado de Macroquistes de *Sarcocystis* (LMS) a partir de macroquistes libres de tejido cárnico tratado y no-tratado, se procedió a extraer los macroquistes libres de tejido cárnico, que fueron colocadas en solución salina fosfatada (PBS) (pH 7.2, 0.15M), después los macroquistes fueron machacados en morteros estériles, y se le añadió 8ml de PBS filtrados en gasa estéril, luego fueron colocados en un vaso de 10ml; después fueron lisados por ultrasonificación (Fisher-300) a 60 ciclos de intervalos de 30S/4 veces y centrifugados a 12,000 g/30 minutos. Luego de centrifugado la solución se colectó el sobrenadante, la cual fue ubicada en frascos estériles. A la solución resultante se le añadió antibiótico, con el fin de evitar la contaminación bacteriana durante el proceso del lisado (100 unidades internacionales de Penicilina y 100 mg de Estreptomicina); finalmente fueron llevados a la congeladora hasta su uso, además se recolectó 0.5 ml. de la solución para la medición del contenido de proteína total, la misma que permaneció congelada hasta su medición.

5.1.2 Determinación de Proteínas de los Lisados de *S. Aucheniae*

La proteína fue medida en el laboratorio clínico de la F.M.V – U.N.M.S.M., haciendo uso del espectrofotómetro (Photometro 4010 Manheim Boehringer) con una longitud de onda de 540 nm.

En el siguiente cuadro se observa que el número de quistes está directamente relacionado con la concentración de proteína no purificada de cada

grupo de carne tratada y no tratada. El curado seco fue el que obtuvo una mayor concentración de proteínas (27300 µg/ml) esto se relaciona a la mayor cantidad de quistes extraídos de la carne (200 macroquistes); mientras el marinado fue el tratamiento que se obtuvo menor número de macroquistes (100 macroquistes) por lo tanto una menor concentración de proteínas (10150 µg/ml) (Cuadro 8).

5.1.3 Dosis del inóculo de proteína purificadas de macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* obtenidas de carnes tratadas y no tratadas.

Los 30 conejos fueron distribuidos en 6 grupos, de 5 animales de similar peso, a los cuales se les aplicó una dosis del inóculo de 100µg/Kg. de peso vivo, las dosis de cada animal fueron calculadas y estandarizadas a 1ml con Solución Salina Fosfatada (PBS) (Cuadro 9).

5.1.4 Evaluación de los signos clínicos:

Post-inoculación se evaluó los signos clínicos: diarrea, postración, hiperemia, depresión, anorexia, congestión conjuntival, etc. Además se evaluó la temperatura pre -inoculación, 1 hora, 4 horas y 8 horas post-inoculación, la temperatura rectal se midió con un termómetro específico (Thermometer clinical).

5.2 Ensayo de viabilidad de los quistes de sarcocystis provenientes de carnes tratadas mediante métodos químicos

5.2.1 Examen Copro-parasitológicos

Se inició la evaluación de heces de todos los animales el día 9 post – ingestión de carnes tratadas y no tratadas; y se prolongo hasta el día 30 post – ingestión. La evaluación se realizó mediante el método de flotación con solución saturada de sal.

Cuadro 8: Número de quistes y concentración de proteínas no purificadas medidas en µg. por ml de carnes tratadas y no tratada

GRUPO EXPERIMENTAL	NUMERO DE MACROQUISTES	CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS µg/ml
Marinado	100	10150
Ahumado	120	11150
Curado Seco	200	27300
Curado Húmedo	180	23500
Grupo control positivo	166	21400

Cuadro 9 Dosis de inóculo estandarizado a 1ml. Conteniendo 100µg/Kg PV de sustancia proteica obtenida de los quistes de las carnes tratadas y no tratadas

GRUPO EXPERIMENTAL	PESO PROMEDIO DE LOS ANIMALES (Kg)	VOLUMEN INOCULADO (ml) CON UNA DOSIS DE 100µg/Kg. P.V
Marinado	2.0	0.027
Ahumado	2.2	0.020
Curado Seco	2.7	0.010
Curado Húmedo	2.3	0.015
Grupo control positivo	2.5	0.012

IV. RESULTADOS

1 Ensayo de la toxicidad de los quistes de sarcocystis provenientes de carnes tratadas mediante tratamientos químicos

1.1 Signos Clínicos.- Se observaron los siguientes signos clínicos (Foto 9) en todos los animales del Grupo Control positivo y del Curado húmedo: anorexia, depresión, postración, diarrea, congestión conjuntiva, inestabilidad, ataxia, opistotomos. Los demás grupos no presentaron ningún signo clínico.

La temperatura rectal de los conejos fueron registrados pre - inoculación, 1 hora después de la inoculación; luego a intervalos de 4 horas hasta las 16 horas post-inoculación. A la hora post - inoculación se observó un mayor incremento de temperatura en el grupo control positivo (de 39.1 a 40° C) y en el curado húmedo (de 38.6 a 39.5), mientras que los grupos restantes incrementaron ligeramente su temperatura. De igual manera a las 4h se registró la temperatura más elevada en el grupo control positivo y el curado húmedo, 41.3° C y 40.7 respectivamente. El grupo que recibió solo suero fisiológico (grupo control negativo) la temperatura estuvo dentro del rango normal de 38.6 °C a 39.6°C como lo describe Flecknell en 1999. A las 16 h la temperatura rectal disminuyó en todos los grupos experimentales, excepto el grupo de curado húmedo y control positivo que no se registró por muerte de todos los conejos (cuadro 10).

Foto 9: Signos clínicos observados en los animales del Grupo control positivo y el curado húmedo



Temperatura levada



Congestión conjuntival



Diarrea



Muerte

***Cuadro 10: Temperatura rectal promedio en los conejos, registrado pre -
inoculación y 1h, 4h, 8h, 16h post-inoculación de la sustancia proteica del
lisado de macroquiste de S. Aucheniae provenientes de carnes tratadas y no
tratadas***

Grupos experimentales	Pre - inoc	1hora post - inoc	4horas post inoc	8horas post- inoc	16horas post – inoc
Marinado	39.2	39.4	40.1	41.2	39.3
Ahumado	38.7	39.2	40	40.7	38.7
Curado Seco	38.8	39.0	40	40.9	39.3
Curado Húmedo	38.6	39.5	40.7	39.7	Murieron
Gpo control positivo	39.1	40	41.3	40.4	Murieron
Gpo control negativo	38.4	38.6	39.0	39.6	38.9

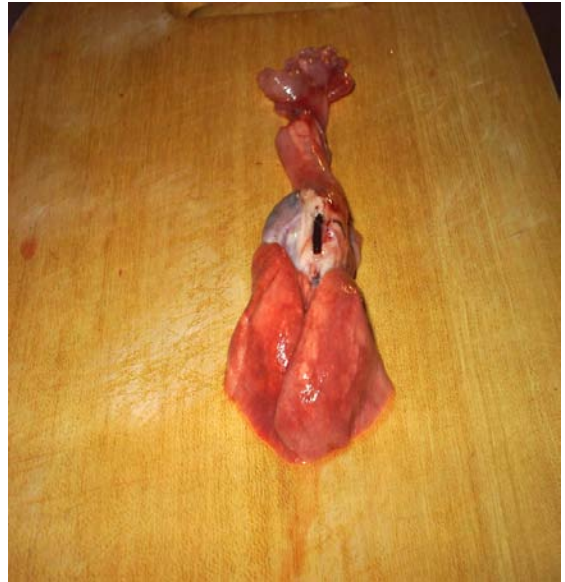
1.2 Letalidad por efecto de la toxina de macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* provenientes de carnes tratadas y no tratadas.- El efecto letal de la proteína se observó en todos los animales del grupo control positivo y del curado húmedo, las horas de muertes de los animales se describirán en el cuadro 11. Se realizó la necropsia a todos los conejos que murieron, encontrándose en todos los animales las siguientes lesiones macroscópicas: congestión de hígado, pulmón, riñón, bazo y traquea, hemorragia pulmonar, severa gastritis con desprendimiento de mucosa, endocarditis e hidropericardio (Foto 10).

2. Ensayo de viabilidad de los quistes de *sarcocystis* provenientes de carnes tratadas mediante métodos químicos. En el examen coproparasitológico que se realizó el día 9 post – ingestión hasta el día 30 post – ingestión, a todos los animales, se detectó muestras libres de parásitos en todos los grupos excepto el grupo control positivo los cuales eliminaron esporoquistes a partir de los 14 días pos ingestión de carne (cuadro 12).

Foto 10: Hallazgos de Necropsia



Congestión traqueal



Congestión Pulmonar



Congestión hepática



Congestión Renal

Cuadro 11: horas de muerte post – inóculo

Grupos experimentales	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
Marinado	--	--	--	--	--
Ahumado	--	--	--	--	--
Curado Seco	--	--	--	--	--
Curado Húmedo	8H 30'	9H	9H 20'	10H 15'	12H 20'
Control positivo	8H	8H 30'	8H 50'	1h30'	10H 45'
Control negativo	--	--	--	--	--

Cuadro 12: Examen coproparasitológico de perros alimentados con carnes tratadas y no tratadas dentro de los 30 días post ingestión

TRATAMIENTO	Días Post ingestión	Examen coprológico resultados
Marinado	30	Negativo
Ahumado	30	Negativo
Curado Seco	30	Negativo
Curado Húmedo	30	Negativo
Gpo control positivo	14	Positivo
Gpo control negativo	30	Negativo

V. DISCUSIÓN

1 Evaluación de la detoxificación de la carne de llama tratada

Los resultados obtenidos en este estudio nos muestran que existen diversos mecanismos capaces de producir la inactivación de la proteína obtenida de los macroquistes de *Sarcocystis* en la carne de llama.

La capacidad tóxica de los macroquistes reside en sus características proteicas; esta característica se pierde cuando la proteína se altera ya sea estructuralmente, en su forma o fraccionándose y esto se logra por desnaturalización proteica (Duran, 2004).

Los resultados obtenidos en la carne marinada, donde no se produjo la muerte de los conejos inoculados, se debe al efecto de los ácidos en la carne; el incremento de iones de H^+ y OH^- , afectan la carga eléctrica de los grupos ácidos y básicos de las cadenas laterales de los aminoácidos. Esta alteración de la carga superficial de las proteínas elimina las interacciones electrostáticas que estabilizan la estructura terciaria produciendo su precipitación (Lesk, 2000)

Los conejos del grupo de carne ahumada tampoco murieron, este efecto se atribuye a que durante el ahumado de los productos cárnicos suele realizarse simultáneamente un proceso térmico (Shweigert et al, 1971). La intensificación de la acción del calor, que lleva consigo el ahumado, causa modificaciones en el sustrato (Girard, 1991), produciendo deshidratación, coagulación de proteínas con depósitos de material resinoso por condensación del formaldehído y del fenol

(Shweigert y col, 1971); esto se debe a que la temperatura elevada aumenta la energía cinética de las moléculas con lo que se desorganiza la envoltura acuosa de las proteínas y se desnaturaliza, así mismo un aumento de la temperatura destruye las interacciones débiles y desorganiza la estructura de la proteína, de forma que en el interior hidrofóbico interacciona con el medio acuoso produciendo agregación y precipitación de la proteína (Lesk, 2000).

El curado seco produjo también la inactividad de la toxina, debido al incremento de la concentración de sal (incremento de la fuerza iónica) que se traduce en una pérdida del equilibrio; produciendo un flujo inicial de agua desde las proteínas del músculo hacia el medio, luego se invierte, por que la sal se difunde al interior, formando un complejo con las proteínas de la carne (Lawrie, 1998). La reacción de la sal con la proteína, produce precipitaciones de proteínas solubles en la superficie de las carnes (Girard, 1991). Este efecto se da por un incremento de la fuerza iónica del medio que provoca una disminución en el grado de la proteína, ya que estos solutos compiten por el agua y rompen los puentes de hidrógeno o las interacciones electrostáticas, de forma que las moléculas se agregan y precipitan (Lesk, 2000).

El único grupo tratamiento que no produjo inactivación de la toxina fue el curado húmedo, a pesar de tener los mismos principios que el curado seco, se llegó a la conclusión que este tratamiento tiene la característica de presentar una difusión lenta de la solución salina en la carne, debido a soluciones relativamente débiles (6 – 9%), como la que fue aplicada por Lawrie en 1998; existe una relación lineal entre la concentración de sal y la velocidad de penetración (Girard, 1991).

Estos resultados coinciden con lo reportado por Duran en el 2004, quien empleo una salmuera al 15%.

La hipertermia observada post – inoculación en todos los animales tratados (además del grupo control positivo) fueron reportados también en estudios realizados por Sam et al en el 1998; Durán en el 2004 y Céspedes en el 2005; y es atribuida a la toxina cuya presencia ocasiona la producción de pirógenos endógenos como mecanismo de defensa del organismo (Guinart et al 1997).

Postración, disnea, diarrea, congestión conjuntival, lagrimeo, relajación del esfínter anal y muerte, fueron observados en todos los conejos del grupo control positivo y del curado húmedo; los mismos signos fueron reportados por Leguía y col en 1990; Sam en el 1998, Duran en el 2004 y Céspedes en el 2005. Las lesiones macroscópicas encontradas en los conejos coinciden con las descritas por Sam et al en el 1998, atribuyendo estos daños a la toxicidad de los macroquistes, que produce alteraciones agudas en diferentes órganos vitales.

2 Evaluación de la interrupción del ciclo biológico de *Sarcocystis*

Los resultados obtenidos en este estudio nos indican que todos los tratamientos realizados eliminan la viabilidad de los macroquistes; resultados que coinciden con los obtenidos por Duran en el 2004, Céspedes en el 2005 y Fayer en el 2004.

Girard en 1991 y Warris en el 2003 mencionan que la deshidratación, la temperatura alta y la concentración de solutos producen la muerte de cualquier organismo; estos mecanismos explicarían el efecto de los tratamientos realizados.

La eliminación de esporoquistes en las heces de los perros del grupo control positivo demuestra la viabilidad de los quistes en el estudio. La ausencia de esporoquistes en el grupo control negativo, indican que los animales no estuvieron infectados previo al estudio.

Por lo tanto los tratamientos químicos realizados a la carne parasitada con *Sarcocystis aucheniae* interrumpen el ciclo biológico del parásito.

VI. CONCLUSIONES

- ✓ Los tratamientos: marinado, curado seco y ahumado lograron detoxificar la toxina del quiste de *Sarcocystis aucheniae*.
- ✓ El curado húmedo no logró desentoxicar la toxina de los quistes de *Sarcocystis aucheniae*.
- ✓ La sintomatología tóxica y posterior muerte de todos los conejos del grupo control positivo demuestran la letalidad de la toxina de los macroquistes utilizados en el estudio.
- ✓ Todos los tratamientos realizados en el presente estudio lograron interrumpir el ciclo biológico de *Sarcocystis aucheniae*.
- ✓ Los Cachorros pertenecientes al grupo control positivo eliminaron esporoquistes a partir del día 14 post – ingestión, indicando así la viabilidad de los macroquistes utilizados en el estudio.

VII. LITERATURA CITADA

1. ACHA, P.; SZYFRES, B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre a los animales. 3ª ed. 3:84-87. Chile
2. ALVA, J.; ROJAS, M.; NUÑEZ, A. 1980. Decomisos por Parasitosis y su Importancia Económica en Alpacas (Lama pacos). Rev. Inv. Pec. IVITA. UNMSM., Lima 5(1) 61-62.
3. AMERINE, M.; PANGBORN, R.; Roessler, E. 1965. Principles of sensory evaluation of food. Academic Press, New York and London, 602p
4. AYALA, C. 1999. Estudio Detallado de la Ocurrencia de Sarcocystis en el altiplano Boliviano. En: Progress in South American Camelids research, P. 181-185. The European Association for Animal Production. Gottingen, Germany.
5. ATIAS, A. 1991. Parasitología clínica. Editorial mediterráneo. Tercera edición.
6. BARRIGA, O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en América Latina. Editorial Germinal. Santiago de Chile.
7. BENTZ, B.G.; DIRIKOLU, L.; CARTER, W.G.; SAVILLE, W.; WILLIAMS, N.M.; BERNARD, W.V.; WULFF-STROBEL, C.; BAKER, C.B.; McCCRILLIS, S.; REED, S.; HARKINS, J.D.; GRANSTROM, D. E.; TOBIN, T. 2000. Diclazuril and equine protozoal myeloencephalitis (EPM): a clinical report. Equine Veterinary Education. 12(4): 195 – 200.
8. BRIGGS, M.; FOREYT, W. 1985. Sarcocystis in cattle continuing education 6(7):3

9. CASTRO, J. 1974. *Sarcocystis aucheniae* en Llamas (*Lama glama*). Rev. Inv. Pec. (IVITA). UNMSM. 3(1): 91-92.
10. CASTRO, C.; SAM, R.; LOPEZ, T.; GONZÁLEZ, A.; SILVA, M. 2004. Evaluación de la Edad como Factor de Riesgo de Seropositividad a *Sarcocystis* sp. en Alpacas. Rev. Inv. Vet., Perú 15(1):83-86.
11. CESPEDES, C.; 2005. Saneamiento y Detoxificación de la Carne de Alpaca con *Sarcocystis* Mediante Tratamientos Físicos Apropriados para uso Domestico. Tesis para Optar el Título de Médico Veterinario. p.68. U.N.M.S.M, Lima-Perú.
12. CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999. Parasitología veterinaria. p. 319-328. Ed. Interamericana Mc. Graw-Hill. España.
13. DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; FAYER, R. 1989. Sarcocystiosis of animals and man. CRC. Press. 215p. Boca Ratón, Fl, USA.
14. DUBEY, J.; FRITZ, D.; LINSAY, D; SHEN, S.; KWOK, O.; THOMPSON, K. 2001. Diklazuril preventive therapy of gamma interferon knockout mice fed *Sarcocystis neurona* sporocysts. Vet. Parasitol: 94(20): 257-264
15. DURAN, J. 2004. Saneamiento y Detoxificación de la Carne de Alpaca con *Sarcocystis* Mediante la Aplicación de Tratamientos Físicos – Químicos Apropriados para Uso Domestico. 54p.Tesis para Optar el Título de Médico Veterinario. U.N.M.S.M. Lima – Perú.
16. ESCOBAR, F.1999. La llama, reina de los Andes, conquista el mundo moderno. OEI. La Paz. Bolivia. On. Line: <http://www.oei.org.co/sii/entrega14/art09.htm#aa>
17. FAYER, R. 2004. *Sarcocystis spp.* in human infections. Clin. Microbiol. Rev. Oct; 17(4): 894-902.
18. FENEMA, O. 2000. Food chemistry. Third Edition Marcel Dekker. New York USA.
19. FLECKNELL, P. 1999. Conejos En: Manual de animales exóticos. P. 81-95. P. Beynon.; J. Cooper (ed). Ed. Harcourt Brace. Madrit.
20. FRANCO, E.; GARCIA, W.; PEZO, D. 1998. Manual de Crianza de Llamas. Pub. Tec. FMV. (33):13-14, 20-21.
21. FREIXENET, L. 1993. Spray injection of meat Fleischwirtsch. 547 – 550.
22. GAMARRA, M. 1994. Problemática de la Crianza y Producción de la Alpaca en el Perú: Situación Actual y Alternativas de Solución. MV Rev. Cien. Vet., Lima. 10(4): 19-24.

23. GEORGI, J.; GEORGI, M. 1994. Parasitología en clínica canina. p. 80-81,86-87. Ed. Interamericana Mc Graw-Hill. México.
24. GIRARD, J. P. 1991. Tecnología de la carne y de los productos cárnicos. p. 5-29, 35-79,89-119.Ed. Acribia. Zaragoza.
25. GUINART, N.; LÓPEZ, J. 1997. ¿Qué sabemos de la fiebre?. Rev Cubana Med Gen Integr 13(2). On Line: http://www.bvs.sld.cu/revistas/mgi/vol13_2_97/mgi09297.htm..
26. HAMM, R.1965. Hamglobin und Myoglobin. Hand buch der Lebensmittelchemie band. 15. Springer Verlag. Berlin – Heidelberg – New York. 749 – 756.
27. HIEPE, F.; LIETZKE, L.; SCHEIBNER, G.; JUNGSMANN, R.; HIEPE, T.; MONTAG, T. 1981. Untersuchungen zur toxischen Wirkung von Extrakt aus *Sarcocystis ovifelis*-Macrozysten auf Kanarienvögel. Mh. Vet. Med. 36:908-910.
28. JERI, A; 1988. Seminario Taller Sobre producción, procesamiento, transformación y consumo de carnes de camélidos domésticos. La carne de llama y alpaca. CONCYTEC. Pag 21 – 25.
29. JONES, S. 2000. Value – Added Processed meats Short Course. Department of animal Science. University of Nebraska – Lincoln.
30. LAGARES, J.; FREIXENET, LL.1991. Aditivos e ingredientes en la fabricación de jamón cocido: alimentación, equipos y tecnología (Abril, 1991). Pag 117 - 127
31. LAWRIE, R. 1998. Ciencia de la carne. 3ª Ed. P. 187-281.Ed. Acribia. Zaragoza.
32. LEGUIA, G. 1987. Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de las Alpacas. CICC UNMSM-IVITA. 4. oct. P. 38-43.
33. LEGUIA, G.; CLAVO. 1989a. Sarcocystiosis o “Triquina”. Bol. Téc. 7. agosto. CICC. Lima. p. 1-19.
34. LEGUIA, G.; GUERRERO, C.; SAM, R.; CHAVEZ, A.; 1989b. Infección Experimental de Perros y Gatos con Micro y Macroquistes de *Sarcocystis* de Alpacas (*Lama pacos*). Rev. Cienc. Vet. IVITA. Lima 5(3): 10-13.
35. LEGUIA, G.; GUERRERO, C.; SAM, R.; ROSARIO, R. 1990a. Patología del *Sarcocystis lamacanis*. N. sp. En Alpacas Infeccionadas Experimentalmente. Rev. Cienc. Vet., Lima 6(3):11-13.
36. LEGUIA, G.; GUERRERO, C.; CHAVÉZ, A.; ARÉVALO, F.; SAM, R. 1990b. Estudio de la Sarcocystiosis En: Avances sobre Investigación en Salud Animal.

- CSA. UNMSM. Bol. 23. ener. p. 43-46.
37. LEGUIA, G.; ARÉVALO, F. 1990. Efecto de la Cocción, Refrigeración, Congelación y Deshidratación (Charqui) sobre la Viabilidad del *Sarcocystis* de Alpacas. Mv. Rev. Cienc. Vet., Lima 6(1):19-20.
 38. LEGUIA, G. 1999. enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. 1^a. ed. p. 23-29. Ed. De mar. Lima. Perú.
 39. LEHNINGER, A. 1987. Bioquímica de las bases moleculares de la estructura y función celular. 2^a. ed. P. 64-65. Ed. Omega S.A. Barcelona España.
 40. LESK, A. 2000. Introduction to protein architecture the structural biology of proteins. Editorial Cambridge Institute for medical Reserch. University of Cambridge.
 41. LEVINE, N. 1986. The Taxonomy of *Sarcocystis* (Protozoo: Apicomplexa) Species. Parasitology Today. 7: 54-56.
 42. Leyva, V. 1989. Sistemas de producción de alpacas. In simposio: Producción de alpacas y llamas. Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM. XII Reunión Científica Anual A.P.P.A. Lima, Perú. p. 157-168.
 43. LEYVA, V. 1991. Informe Técnico 111 Fase. Proyecto Camélidos Sudamericanos (IVITA - CIID). p.21.
 44. LINDSAY, D.; DUBEY, J. 2000 Determinación del de la actividad del diclazuril contra *Sarcocystis neurona* y *Sarcocystis falculata* en cultivos de células. J Parasitol. Feb;86(1):164-6.
 45. MANDIGO, R. 2000. Value – Added Processed Metas Shot Course. Department of animal sciencie. University of Nevaska – Lincoln.
 46. MANSILLA, D. 1993. Efecto histopatológico del lisado de macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* en ratones, conejos y cobayos. Tesis FMV – UNMSM. Lima – Perú. 60 p
 47. MANUAL MERK DE MEDICINA VETERINARIA. 2000. Quinta edición, Editorial Océano: 2026.
 48. MARTINEZ, J.; PEREZ, J.; CÁMRA, S.; MILLÁN, Y.; BORGE, C. 1999. Patología de los pequeños rumiantes en imágenes (IV). Enfermedades de los adultos (enfermedades parasitarias). Universidad de Córdoba. On line: http://www.colvet.es/infovet/dic99/ciencias_v/artículo1.htm

49. MEHLHORN, H.; PLEKARSKI, G. 1993. Fundamentos de Parasitología, Parásitos del Hombre Y de los Animales Domésticos. 3ª ed. p. 72-78. Ed. Acribia. Zaragoza.
50. MINISTERIO DE AGRICULTURA DEL PERÚ. 2004. Sector Pecuario en el Perú. On Line: <http://www.minag.gob.pe/pecuario.shtml>. (16/02/2005)
51. MONTOYA, L; 1988. Sobre producción, procesamiento, transformación y consumo de carnes de camélidos domésticos. Problemática socio-cultural en el consumo de carne de camélidos CONCYTEC. Pag 47-49.
52. MULLER, W.1990. Tecnología de los productos cocidos. Fleischwirtsch 1/1990. Pag 66 – 70.
53. OCKERMAN, H. 1978. Diffusión of curing brine in tumbled and non tumbled porcine tissue. J. Fodd Prot. 4 (19878), 178 – 1981
54. PRICE, J.; SHWEIGERT. 1994. The Sciencie of meat and meat products (Foods – Nutritionpress, Inc. USA).
55. QUIROZ, H. 2000. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Editorial Limusa S.A. Mexico
56. RAMIREZ. A; FRANCO. E; PEZO. D; GARCIA. W. 1998. Diagnóstico y control de enfermedades en camélidos sudamericanos. Pub. Tec. FMV. Mar. (34): 70 – 73.
57. ROCHA, A. 2000. El marinado de la carne de ave. Carnetec Septiembre – Octubre 2000.
58. ROJAS, M. 1990. Parasitismo de los rumiantes domésticos: terapias, prevención y modelos para su aprendizaje. Editorial Maijosa Lima – Perú.
59. ROJAS, M. 2004. Nosoparasitosis de los rumiantes domésticos peruanos. 2ª. ed. P. 132-133. Lima-Perú.
60. SAM, R.; MANSILLA, I.; MORALES, C.; RAMIREZ, A. 1998. Efecto Tóxico de Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* en ratones, cobayos y conejos. Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú). 9 (2): 11-18.
61. SANCHEZ, A.; TORRES, D. 2001. Transformación de Carne de Camélidos- Perspectivas de Mercadeo. Rev. Inv. Vet. Perú; Suplemento. 1: 125-127.
62. SNEDECOR, G; COCHRAN, W. 1989. Statistical Methods.8 th edition. The Iowa State University Press. 503p.
63. SHWEIGERT, B.; PRICE, J. 1971. Ciencias de la carne y de los productos cárnicos. Ed. Acribia. Zaragosa. p. 413-434
64. SOULSBY, E. 1988. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª ed. Ed. Interamericana. México. . p. 681-697.

65. TELLEZ, J. 1992. Tecnología e industrias cárnicas. 1ª ed. Tomo II. P. 360-376,460-468. Ed. Acribia. Zaragoza.
66. TENTER, A. 1995. Current research on *Sarcocystis* species of domestic animals. Int. J. Parasitol. 25:1311-30
67. UMQUHART, G.; DUNCAN, J.; DUMN, A.; JENNINGS, F. 2001. Parasitología Veterinaria. Edición Acribia. Zaragoza.
68. VILCA, M.1991.Producción, tecnología e higiene de la carne. En: Avances y Perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. FAO. Santiago de Chile. 429p.
69. VILCA, M.; MONTOYA, L.. 1996. El Beneficio de Camélidos en Camales Municipales Altoandinos. MV. Rev. De Cien. Vet., Lima. 12(4): 23-28.
70. WARRIS. P. 2003. Ciencia de la Carne. p. 204-212. Ed. Acribia. Zaragoza.
71. WATERS, E. 2000. Value – Added Processed Meats Short Course Departament of animal Sciencie. University of Nebraska – Lincoln.
72. XARGAYÓ, M.; LAGARES, J.; FERNÁNDEZ, E.; RUIZ, D.; BORRELL, D. 2003. Marinado de carne fresca por efecto Spray. Departamento tecnológico de Metalquimia, S.A. Girona, España.